

З. Б. КВАЧЕВА¹, И. Б. ВАСИЛЕВИЧ¹, А. Г. ПОЛЕШКО¹, А. П. МУЗЫЧЕНКО²,
И. В. КУМОВА²

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ВОЛОСЯНОГО ФОЛЛИКУЛА И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ В ЛЕЧЕНИИ АЛОПЕЦИИ

¹ Государственное научное учреждение «Институт биофизики и клеточной инженерии
Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

² Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Обзор посвящен новому разрабатываемому направлению в лечении алопеции – использованию культивированных стволовых клеток волосяного фолликула (ВФ) в стимуляции роста волос. Представлены современные данные о строении и функциях ВФ в морфогенезе волоса. Основными клеточными популяциями ВФ являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК) дермальной папиллы (ДП) и эпителиальные стволовые клетки (ЭпСК) наружного корневого влагалища, взаимодействие которых приводит к неогенезу волоса. Рядом исследователей установлено, что морфогенез ВФ инициируется основными клеточными сигнальными путями, включая Wnt/ β -катенин, sonic hedgehog (Shh), Notch и BMP. Установлено, что популяцией клеток, обладающей способностью индуцировать рост волоса, являются клетки ДП. При культивировании данных клеток их индукционная способность снижается. Рассмотрены условия и механизмы повышения индуктивности клеток ДП *in vitro*. Раскрытие механизмов межклеточного взаимодействия при формировании ВФ позволит определить новые подходы клеточной терапии для восстановления функции ВФ и роста волос у людей с алопецией.

Ключевые слова: алопеция, волосяной фолликул, стволовые клетки, культура клеток, регенеративный потенциал.

Введение. Алопеция (потеря волос) является полиэтиологическим заболеванием с многофакторными патогенетическими механизмами [1, 2]. У большинства пациентов алопеция является результатом изменений цикличности роста волос (нерубцовые алопеции) и реже – вследствие первичного дефекта формирования волосяного стержня или воспалительных процессов, приводящих к утрате волосяных фолликулов и рубцеванию (рубцовые алопеции). В составе разновидностей алопеции более чем в 80 % из них встречаются нерубцовые алопеции – очаговая (гнездная), диффузная (телогеновая и анагеновая), андрогенная [2, 3]. Выпадение волос способствует снижению социальной активности пациентов, самооценки и, как следствие, качества их жизни, в ряде случаев приводит к развитию тревожно-депрессивных расстройств (паническое расстройство, эпизодическая пароксизмальная тревожность и др.) [4]. Все это делает проблему не только медицинской, но и социальной. Существующие методы лечения алопеции приводят к восстановлению роста волос только у 10 % пациентов, и лишь у 20–30 % удается только приостановить процесс, что свидетельствует о необходимости поиска новых путей решения проблемы лечения андрогенной и других разновидностей алопеции [5, 6]. Применение клеточной терапии с использованием стволовых клеток ВФ является новым подходом лечения алопеции и представляет развивающееся направление в регенеративной медицине [7, 8].

Строение и функции волосяного фолликула. ВФ (основание или «корень волоса») является уникальной структурой и играет важнейшую роль в процессе роста волос и поддержании гомеостаза эпидермиса. ВФ развивается и функционирует при тесном взаимодействии клеток эпидермиса и дермы [8–10]. Эпидермальный компонент ВФ

составляют матрикс волоса, наружное корневое влагалище, внутреннее корневое влагалище и стержень волоса. Стержень волоса состоит из терминально дифференцированных кератиноцитов (трихоцитов), он представляет собой производное ВФ. Самая внешняя оболочка ВФ – наружное корневое влагалище – переходит снаружи в базальный слой эпидермиса, а изнутри прилегает к внутреннему корневому влагалищу, которое, в свою очередь, окружает стержень волоса. В состав основания (волосяная луковица) дермального компонента ВФ входит ДП с областью bulb (англ. bulb – луковица), которая является нишей мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [11–14]. В отношении ЭпСК ВФ ранее считали, что эти клетки расположены в волосяной луковице. Однако в настоящее время установлено, что ЭпСК расположены в месте прикрепления к ВФ мышцы, поднимающей волос. Эти клетки образуют утолщение, называемое областью bulge (англ. bulge – утолщение, бугорок) (рисунок 1) [15–18]. Они редко делятся митотически и содержат 95 % всех клоногенных клеток ВФ. Только 5 % ЭпСК из них находятся в волосяной луковице. Утолщение ВФ, содержащее ЭпСК, вместе с МСК ДП могут инициировать новый фолликулярный рост нестин-положительных стволовых клеток [19]. В состав микроокружения интерфолликулярного эпидермиса ВФ входят следующие структуры: базальная мембрана; клетки Лангерганса; клетки Меркеля; меланоциты – отростчатые клетки, синтезирующие меланин, который защищает эти клетки от ультрафиолетового воздействия, других видов излучений и продуктов перекисного окисления липидов. С ВФ ассоциированы также сальные железы, кровеносные сосуды, нервные окончания и мышца, поднимающая волос [2].

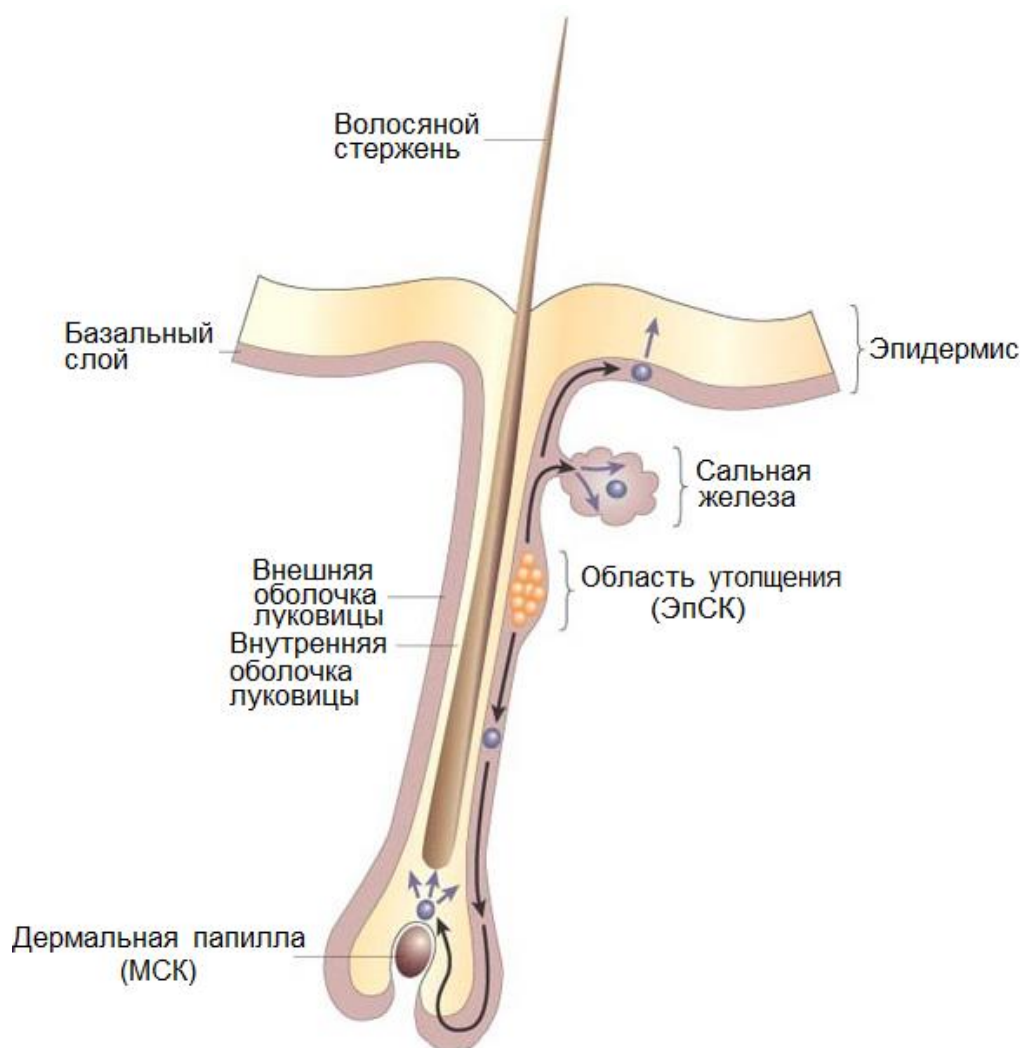


Рисунок 1. Схематическое строение волоса

ВФ образуется из ЭпСК, дифференцировку которых «контролируют» клетки ДП, выделяя в межклеточную среду определенные морфогенетические факторы [2, 19, 20]. Кроме того, ЭпСК в области утолщения ВФ являются мультипотентными клетками и могут формировать не только все клетки ВФ, но и клетки сальных желез и межфолликулярного эпидермиса. Наиболее надежными маркерами ЭпСК ВФ, как считает ряд авторов, являются CD200, цитокератин [15, 19, 21]. Таким образом, в эпителии кожи существуют 2 разновидности региональных ЭпСК. В межфолликулярном слое эпидермиса они имеют разную степень зрелости. Эпидермис включает стволовые, транзиторные, положительные на цитокератин 19 [10], дифференцированные клетки и корнециты. В ВФ имеются собственные региональные стволовые клетки, которые обеспечивают клеточным материалом все 7 разновидностей его дифферонов: региональные стволовые клетки области утолщения и региональные стволовые клетки луковицы. МСК ДП экспрессируют различные маркеры, в том числе маркеры дермальных фибробластов: фибронектин, CD133, CD44, α -SMA. Щелочная фосфатаза является наиболее специфичным из маркеров ДП [21].

Реорганизация ВФ в цикле роста волоса. В течение своей жизни ВФ претерпевает 4 фазы развития: анагена (роста волоса), телогена (покоя), катагена (переходная стадия от анагена к телогену) и экзогена (выпадения волос). Во время телогена, сопровождающегося постепенным разрушением старого волоса, клетки утолщения ВФ не подвергаются апоптозу, а, наоборот, сохраняются и служат источником для развития нового волоса. С МСК ДП постоянно обмениваются химическими сигналами ЭпСК утолщения ВФ. Таким образом, происходит регулирование их митотической активности и интенсивности продукции компонентов внеклеточного матрикса их прогениторами [2, 19, 21, 22]. В то же время ЭпСК под воздействием индукционных сигналов от МСК со стороны дермы формируют такие структуры как ВФ, сальные и потовые железы. ВФ является также резервуаром стволовых клеток эпидермиса, которые способны давать начало всем типам эпителиальных клеток ВФ в процессе его регенерации в цикле роста волоса, а также клеткам интерфолликулярного эпидермиса и клеткам сальной железы. ВФ подвержены циклическим изменениям, в ходе которых способны полностью регенерировать, что обеспечивается их эпителиальными и мезенхимальными компонентами [2]. В цикле роста волоса реорганизация ВФ происходит в результате серии индукционных взаимодействий между клетками мезенхимы и эпителия. Популяцией клеток, обладающих индукционной способностью, являются МСК ДП луковицы ВФ, которые и инициируют рост волоса [11, 14, 20, 23]. Развитие ВФ инициируется и регулируется последовательными сигналами, в результате чего формируется волосяная плакода (волосяной бугорок), определяющая место формирования будущего волоса. Паттерн расположения волос регулируется градиентом индукторов и ингибиторов фолликулогенеза. Морфогенез ВФ человека инициируется основными клеточными сигнальными путями, включая Wnt/ катенин, sonic hedgehog (Shh), Notch и BMP [8, 24, 25]. Путь, опосредованный транскрипционным фактором Wnt, играет роль главного регулятора на индукционной стадии морфогенеза с развитием плагоды ВФ. На этапе органогенеза комплекс сигналов эпителиальных клеток индуцирует пролиферацию дермальных клеток, образование дермального конденсата и миграцию дермального конденсата в дермальный слой [8]. На стадии цитодифференцировки, покрывая дермальный конденсат фолликулярными эпителиальными клетками, формируются отчетливые дермальные сосочки. Путь, опосредованный транскрипционным фактором Shh, играет главную роль на поздней стадии дифференцировки. Перспективы развития стволовых клеток ВФ определяются через путь Notch. Передача сигналов BMP регулирует клеточную дифференцировку ВФ [8, 26]. Заболевания, характеризующиеся нарушением функциональной активности и структуры ВФ, связаны с изменением регуляции этих сигнальных путей [2, 8]. В развитии ВФ играют роль также факторы роста, которые способствуют развитию ВФ и регуляции клеточного цикла: эпидермальный фактор роста (EGF), трансформирующий фактор роста- β (TGF- β), инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор роста

кератиноцитов (KGF) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [2]. Любые изменения в распределении соответствующих рецепторов факторов роста и в уровне их экспрессии могут вызвать также нарушения роста и развития ВФ [2, 8].

Характеристика культивируемых клеток ВФ. Перспективы и проблемы их применения в качестве биомедицинского клеточного продукта (БМКП). Понимание ниши стволовых клеток ВФ очень важно для выбора условий культивирования клеток и поддержания их функциональной активности [14]. Имеются различные подходы к выделению и культивированию стволовых клеток из ВФ человека [27–29]. Для выделения ЭпСК утолщения и МСК луковицы ВФ применяются несколько методов. К ним относятся механическое разделение, микродиссекция, ферментативное расщепление и сортировка клеток ВФ [28–31]. Для культивирования клеток из утолщения ВФ было подобрано несколько составов ростовых сред для поддержания экспансии ЭпСК при сохранении их мультипотентности. Сообщается об использовании следующих ростовых сред для культивирования ЭпСК и прогениторных клеток ВФ: DMEM, DMEM/F12, RPMI, CnTO1. Добавление к питательной среде факторов роста, таких как основного фактора роста фибробластов (bFGF) и EGF, способствовало поддержанию самообновления, высокой скорости пролиферации и потенциальной способности к мультипотентной дифференцировке ЭпСК [28–31]. Культивированные ЭпСК ВФ при низком содержании кислорода продемонстрировали повышенную способность к колониеобразованию со значительно более высоким общим числом колоний и голоклонов (популяция стволовых клеток) [8]. Получены данные о возможности криоконсервации клеток ВФ человека без потери их свойств и сохранения дифференцировочного потенциала *in vitro* [32]. В работах Bajrai V.K. et al. [33], Wu J. et al. [34], Wang B. [35] даны всесторонние характеристики МСК, выделенных из ДП ВФ и накопленных в условиях культуры. Выявлена высокая пролиферативная активность данных клеток при культивировании в питательных средах DMEM и DMEM/F12 с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки и bFGF. Установлено, что МСК из ДП ВФ способны к поддержанию в культуре 45 удвоений популяции без клеточного старения. Также был подтвержден миогенный, остеогенный, адипогенный и хондрогенный дифференцировочный потенциалы этих клеток *in vitro* [35, 36]. Важно отметить, что клетки, выделенные из ВФ, могут быть перепрограммированы в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки *in vitro* с эффективностью, в 100 раз превышающей эффективность, характерную для фибробластов кожи [8], что открывает потенциал этих клеток для клеточной терапии. Было обнаружено, что трехмерные (3D) условия культивирования клеток ВФ в виде сфероидов более предпочтительны для поддержания функций клеток по сравнению с двумерными (2D) условиями [37, 38]. Изучается взаимодействие МСК и ЭпСК ВФ в виде сфероидных объектов с микроносителями, а также в составе тканеинженерных конструкций, которые могут обеспечить усиленное межклеточное взаимодействие, точно имитируя физиологическую нишу клеток ВФ *in vitro* [38, 39]. Еще одной областью, актуальной для исследователей, является разработка субстратов клеточного микроокружения, которые подходят для экспансии *in vitro* стволовых клеток ВФ без негативного влияния на их пролиферативный и дифференцировочный потенциалы [40, 41]. Chen et al. [42] использовали технологию самосборки слой за слоем клеток для разработки наноразмерной микросреды для культуры стволовых клеток ВФ. Данные исследования продемонстрировали возможность инкапсулировать TGF- β 2 в эти слои. Субстраты, нагруженные TGF- β 2, индуцировали трансформацию CD34⁺ клеток в высокопролиферирующие стволовые и прогениторные Lgr5⁺ клетки, тем самым демонстрируя возможность достижения в культуре покоя и состояний функциональной активности клетками ВФ.

Кроме изучения биологии стволовых клеток ВФ в условиях культуры, актуальным в настоящее время является изучение их взаимодействия (эпителиально-мезенхимальное взаимодействие) *in vitro* [25]. Удобной моделью для проведения таких исследований

являются эксплантные первичные монослойные культуры клеток ВФ, в которых содержится гетерогенная популяция клеток с разной пролиферативной активностью и фенотипом, степенью зрелости (мезенхимальные и эпителиальные стволовые клетки). Изучается в этих условиях роль различных клеточных субпопуляций в формировании трубчатых «тубулярных» структур (зачатков волоса) [43], поскольку механизмы взаимодействия мезенхимы и эпителия играют центральную роль в регуляции морфогенеза волоса. Установлено, что среди 184 генов, составляющих «генетический профиль» клеток ДП, 8 являются рецепторами и 8 – факторами роста, специфичными только для этого типа клеток, и еще примерно столько же оказались общими для клеток ДП и некоторых других клеток ВФ [8]. Однако, если выделенные стволовые клетки ДП перенести в ростовую среду для их культивирования, спустя какое-то время они утрачивают свои уникальные характеристики: среда обедняется продуцируемыми ими факторами роста. При этом будучи «пересаженными» обратно в кожу, эти клетки уже не могут запустить образование ВФ [8]. Из этого свидетельствует, что активность «профильных» генов клеток ДП регулируется сигнальными молекулами от других клеток, образующих волосяную луковицу. Установлено, что одним из белков, во многом определяющим биохимический «портрет» клеток ДП, оказался один из членов семейства костных морфогенетических белков – BMP-6, цитокинов, главной функцией которых является регулировка развития костной и хрящевой ткани [8, 22]. Известно, что, кроме участия в формировании опорно-двигательной системы, эти белки играют роль в управлении дифференцировкой и пролиферацией ЭпСК, как во взрослом организме, так и в эмбриогенезе. В качестве биохимического маркера стволовых клеток ДП в этих условиях была выбрана активность щелочной фосфатазы, которая сохранялась длительное время только под действием BMP-6 [22, 26]. Направленное ингибирование активации рецепторов BMP-6 в клетках ВФ нарушает их способность индуцировать рост волос. Рядом исследователей показано, что «чувствительность» клеток ДП к «морфогену» BMP-6 является необходимой для способности управлять процессом формирования ВФ и, значит, определять рост волос. Кроме того, важную роль в клеточной пролиферации и дифференцировке стволовых клеток ВФ играет и микроокружение [44]. Сигналы, обуславливающие развитие ВФ в организме, исходят из дермы и ведут к началу дифференцировки специализированных клеток, входящих в состав ВФ, а также определяют форму и полярность волоса [45, 46]. В связи с этим, в культуре фолликулярных клеток важным является исследование динамики формирующихся межклеточных контактов, пролиферативной и миграционной активности клеток, характера образования трубчатых (тубулярных) структур (зачатков волоса), а также изучение влияния некоторых факторов на эти морфогенетические явления. Калабушевой Е.П. и др. [39, 47] проведены исследования, впервые доказывающие возможность инициации фолликулогенеза в культуре постнатальных клеток человека. Было показано, что в трехмерной культуре (3D культуре) МСК ДП и эпителиоцитов активировался характерный для регенерации ВФ каскад WNT/ β CaTeHHH, повышалась экспрессия маркеров фолликулярных эпителиоцитов: кадгерина, цитокератинов 6, 75, 35, 32 и трихогиалина. В последующем, снижение индуцирующих свойств клеток ДП приводило к потере способности формировать агрегаты. Показано, что добавление гиалуроновой кислоты стимулировало процессы самоорганизации, что свидетельствовало об управляемости процессами морфогенеза зачатка ВФ *in vitro* [47].

Создание технологии выращивания фолликулоподобных структур в культуре имеет большие перспективы в регенеративной медицине для разработки БМКП и их применения в лечении алопеции [20, 45]. Основными используемыми для культивирования и наращивания биомассы популяциями клеток ВФ являются МСК ДП и ЭпСК наружного корневого влагалища. Во многих лабораториях мира ведутся исследования, целью которых является воспроизведение и увеличение количества клеток ВФ *in vitro* для последующей трансплантации пациентам, страдающим различными формами алопеции [41, 46]. Используется как монослойный способ культивирования клеток ранних пассажей, так и 3D-

культивирование клеток в виде сфероидов. Разрабатываются методы одновременного выделения и культивирования МСК и ЭпСК с использованием, так называемых, суспензионных биореакторов. В них создаются оптимальные условия для наращивания биомассы клеток, характеризующихся повышенной плотностью на единицу объема, с контролем концентрации питательных веществ, метаболитов и факторов роста [45, 48]. Результаты исследований показали, что культивируемые клетки в этих условиях могут сохранять свой фенотип даже после 5 пассажей в биореакторе. Дальнейшее исследование морфогенетического потенциала стволовых клеток ВФ и клеток кожи и определение путей управления процессами регенерации в культуре даст новые знания и определит направления развития тканевой инженерии для использования в лечении алопеции.

Терапевтический потенциал клеток волосяного фолликула в лечении алопеции.

Причиной возникновения алопеции является изменения в двух типах стволовых клеток ВФ человека: в клетках утолщения ВФ или в клетках луковицы ВФ [3, 7, 8]. В связи с этим, нарушается обеспечение условий для правильной регенерации волос. Установлено, что при рубцовой алопеции, наблюдающейся при таких аутоиммунных заболеваниях, как системная красная волчанка, красный плоский лишай и др., поражаются клетки утолщения ВФ, что приводит к необратимой потере ЭпСК. При очаговой и андрогенной алопеции (нерубцовой), несмотря на поражение прогениторных клеток, сохраняются МСК утолщения ВФ, поэтому эти типы потери волос могут быть обратимыми [8, 21, 48]. Показана возможность использования для клеточной терапии нерубцовой алопеции не только аутологичных, но и аллогенных стволовых клеток ВФ. Это обусловлено тем, что волосяные фолликулы являются иммунологически привилегированной областью и находятся под влиянием нервной, эндокринной и иммунной систем. В физиологических условиях клетки ВФ характеризуются низкой экспрессией или отсутствием основных антигенов МНС I, наличием в составе популяции клеток Лангерганса, локальной экспрессией иммуносупрессивных веществ [8, 26].

В настоящее время рассматриваются несколько терапевтических стратегий использования стволовых клеток ВФ для регенерации волос [8, 21]:

- восстановление функциональной активности ВФ, снижение которой приводит к выпадению волос (особенно при андрогенной алопеции);
- регенерация целых волосяных фолликулов из их частей (клетки области утолщения (bulge) могут регенерировать целый волос);
- неогенез ВФ из культуры стволовых клеток ВФ с использованием изолированных клеток или тканевой инженерии.

Трансплантация волос является наиболее традиционным методом лечения андрогенной алопеции (микрографты волос, трансплантация фолликулярных единиц и сбор отдельных фолликулярных групп) [8, 21]. Хотя аутологичный волосяной трансплантат считается «золотым стандартом», его применение ограничено как из-за малого количества материала, так и из-за снижения жизнеспособности клеток, полученных таким способом.

Gentile P. et al. [48] продемонстрировали результаты, полученные в исследовании восстановления роста волос у пациентов с андрогенной алопецией, с использованием терапевтического устройства под названием Rigeneracons® (подтвержденный CE класс I, Human Brain Wave, Турин, Италия). Приготовление аутологичных микротрансплантатов, содержащих МСК ВФ, осуществляли путем центрифугирования пункционной биопсии кожи головы пациента и немедленно применяли их в лечении [48]. Данный метод исключает накопление стволовых клеток путем их наращивания в условиях культуры. Однако не всегда достигался положительный терапевтический результат при применении данного подхода.

Рядом исследователей показана возможность лечения андрогенной алопеции путем введения в кожу волосистой части головы выделенных стволовых клеток из здоровых ВФ пациента и размноженных в ростовой среде в условиях культуры [10, 21, 34, 48–50]. После экспансии клеток ВФ в культуре в течение 1 месяца клетки применяли для лечения. При этом разрабатывались персонализированные протоколы лечения, учитывая степень выпадения

волос, клиническое течение заболевания и индивидуальные особенности пациента. Как правило, выполнялось 3 курса введения клеток: 1 раз в течение 15 дней. Но, как показали исследования, данный метод лечения не гарантирует 100 % предотвращение выпадения или неогенез волос. Результативность терапии зависела от клинического течения заболевания и индивидуальных особенностей пациента, в связи с чем, в настоящее время существует множество протоколов лечения при использовании стволовых клеток ВФ. Кроме самих клеток ВФ, в качестве терапевтического средства для лечения алопеции исследуют кондиционированную среду, в которой росли стволовые клетки, экзосомы и микровезикулы, выделенные из культуральной среды и содержащие накопленные при культивировании клеток ростовые факторы, гормоны [8].

Согласно международной базе данных (clinicaltrials.gov) и литературным источникам, в настоящее время во многих лабораториях мира (США, Китай, Корея и др.) проводятся доклинические и клинические исследования возможности применения аутологичных и аллогенных стволовых клеток ВФ для лечения алопеции [49–53]. Разрабатываются методы, повышающие их терапевтическую эффективность [45, 49]. Одним из таких направлений является одновременное использование при трансплантации 2-х типов изолированных стволовых клеток ВФ (МСК и ЭпСК), поиск препаратов повышающих индукционную способность МСК ДП в условиях культуры для стимуляции процессов неогенеза ВФ [34, 42, 44–46].

Заключение. Установлено, что ВФ содержат различные пулы стволовых клеток, такие как ЭпСК и МСК, обладающие функциональными свойствами для стимуляции фолликулогенеза, эпителизации, ангиогенеза за счет их паракринных взаимодействий. Исследования последних двух десятилетий продемонстрировали возможность выделения и культивирования мультипотентных стволовых клеток из ВФ. Полученные фундаментальные и экспериментальные данные, результаты доклинических и клинических исследований, показывают, что культивированные клетки ВФ человека имеют регенеративный потенциал и могут быть использованы для разработки новых протоколов лечения алопеции. Доступность выделения, высокая способность к пролиферации и направленной дифференцировке *in vitro*, делают стволовые клетки ВФ привлекательным кандидатом для разработки БМКП и его применения в клеточной терапии алопеции. Кроме того, с использованием клеточных систем, источником которых могут явиться клетки ВФ, возможно дальнейшее изучение фундаментальных морфогенетических процессов, протекающих в эпидермисе человека на разных этапах онтогенеза, а также изучение процессов дифференциации клеток, эпителио-мезенхимных взаимодействий, поведения стволовых клеток ВФ *in vitro*. Дальнейшее раскрытие механизмов межклеточного взаимодействия при формировании ВФ позволит установить новые подходы клеточной терапии алопеции.

Литература:

- [1]. Гаджигороева А.Г. Клиническая трихология. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2022. 264 с.
- [2]. Горячкина В.Л., Иванова М.Ю., Цомартова Д.А. и др. Физиология волосных фолликулов // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2015. Т. 18. № 3. С. 51–54.
- [3]. Qi J., Garza L.A. An Overview of alopecias // Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2014. Vol. 4. № 3. P. a013615.
- [4]. Мареева А.Н., Кондрахина И.Н. Психоэмоциональные состояния у больных нерубцующими алопециями (гнездой, андрогенетической) // Вестник дерматологии и венерологии. 2015. № 6. С. 50–56.
- [5]. Нажмутдинова Д.К., Таха Т.В. Алопеция: диагностика и лечение // Медицинский совет. 2010. № 5-6. С. 87–91.
- [6]. Кардашова Д.З., Василенко И.А., Ли В.А., Карасев Е.А. Комплексный подход – основа эффективного лечения алопеции // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. 2012. № 1. С. 58–62.
- [7]. Adil A, Godwin M. The effectiveness of treatments for androgenetic alopecia: a systematic review and meta-analysis // Journal of the American Academy of Dermatology. 2017. Vol. 77. № 1. P. 136–141.

- [8]. Owczarczyk-Saczonek A., Krajewska-Włodarczyk M., Kruszewska A. *et al.* Therapeutic potential of stem cells in follicle regeneration // *Stem cells international*. 2018. Vol. 2018. № 1. P. 1049641.
- [9]. Kageyama T., Yan L., Shimizu A. *et al.* Preparation of hair beads and hair follicle germs for regenerative medicine // *Biomaterials*. 2019. Vol. 212. P. 55–63.
- [10]. Llamas-Molina J.M., Carrero-Castaño A., Ruiz-Villaverde R., Campos A. Tissue engineering and regeneration of the human hair follicle in androgenetic alopecia: literature review // *Life*. 2022. Vol. 12. № 1. P. 117–130.
- [11]. Houshyar K.S., Borrelli M.R., Tapking C. *et al.* Molecular mechanisms of hair growth and regeneration: current understanding and novel paradigms // *Dermatology*. 2020. Vol. 236. № 4. P. 271–280.
- [12]. Mistriotis P., Andreadis S.T. Hair follicle: a novel source of multipotent stem cells for tissue engineering and regenerative medicine // *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2013. Vol. 19. №. 4. P. 265–278.
- [13]. Rodriguez C.N., Nguyen H. Identifying quiescent stem cells in hair follicles // *Cellular Quiescence: Methods and Protocols*. 2017. P. 137–147.
- [14]. Morgan B.A. The dermal papilla: an instructive niche for epithelial stem and progenitor cells in development and regeneration of the hair follicle // *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2014. Vol. 4. № 7. P. a015180.
- [15]. Ohyama M. Hair follicle bulge: a fascinating reservoir of epithelial stem cells // *Journal of dermatological science*. 2007. Vol. 46. № 2. P. 81–89.
- [16]. Amoh Y., Hoffman R.M. Hair follicle-associated-pluripotent (HAP) stem cells // *Cell Cycle*. 2017. Vol. 16. №. 22. P. 2169–2175.
- [17]. Li L., Mignone J., Yang M. *et al.* Nestin expression in hair follicle sheath progenitor cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003. Vol. 100. № 17. P. 9958–9961.
- [18]. Uchugonova A., Duong J., Zhang N. *et al.* The bulge area is the origin of nestin-expressing pluripotent stem cells of the hair follicle // *Journal of cellular biochemistry*. 2011. Vol. 112. № 8. P. 2046–2050.
- [19]. Rendl M., Lewis L., Fuchs E. Molecular dissection of mesenchymal–epithelial interactions in the hair follicle. // *PLoS biology*. 2005. Vol. 3. № 11. P. 331.
- [20]. Jahoda C.A.B., Reynolds A.J. Dermal-epidermal interactions: adult follicle-derived cell populations and hair growth // *Dermatologic clinics*. 1996. Vol. 14. № 4. P. 573–583.
- [21]. Gentile P., Garcovich S. Advances in regenerative stem cell therapy in androgenic alopecia and hair loss: Wnt pathway, growth-factor, and mesenchymal stem cell signaling impact analysis on cell growth and hair follicle development // *Cells*. 2019. Vol. 8. №. 5. P. 466.
- [22]. Rendl M., Polak L., Fuchs E. BMP signaling in dermal papilla cells is required for their hair follicle-inductive properties // *Genes & Development*. 2008. Vol. 22. № 4. P. 543–557.
- [23]. Kishimoto J., Burgeson R.E., Morgan B.A. Wnt signaling maintains the hair-inducing activity of the dermal papilla // *Genes & development*. 2000. Vol. 14. № 10. P. 1181–1185.
- [24]. Jansson L., Kim G.S., Cheng A.G. Making sense of Wnt signaling-linking hair cell regeneration to development // *Frontiers in cellular neuroscience*. 2015. Vol. 9. P. 66–78.
- [25]. Sennett R., Rendl M. Mesenchymal-epithelial interactions during hair follicle morphogenesis and cycling // *Seminars in cell & developmental biology*. 2012. Vol. 23. № 8. P. 917–927.
- [26]. Oshimori N., Fuchs E. Paracrine TGF- β signaling counterbalances BMP-mediated repression in hair follicle stem cell activation // *Cell stem cell*. 2012. Vol. 10. № 1. P. 63–75.
- [27]. Oh J.H., Mohebi P., Farkas D.L., Tajbakhsh J. Towards expansion of human hair follicle stem cells in vitro / *Cell proliferation*. 2011. Vol. 44. P.244–253.
- [28]. Ohyama M., Terunuma A., Tock C.L. *et al.* Characterization and isolation of stem cell-enriched human hair follicle bulge cells // *The Journal of clinical investigation*. 2006. Vol. 116. № 1. P. 249–260.
- [29]. Hilmi A.B.M., Halim A.S., Noor N.M. *et al.* A simple culture method for epithelial stem cells derived from human hair follicle // *Central European Journal of Biology*. 2013. Vol. 8. № 5. P. 432–439.
- [30]. Liu F., Uchugonova A., Kimura H., *et al.* The bulge area is the major hair follicle source of nestin-expressing multipotent stem cells which can repair the spinal cord compared to the dermal papilla // *Cell Cycle*. 2011. Vol. 10. № 5. P. 830–839.
- [31]. Molina B.J., Héctor J.F. Isolation, Cultivation, and Morphological Characteristics of Hair Follicle Adult Stem Cells in the Bulge Region in Mouse and Human // *Microscopy Research*. 2020. Vol. 8. № 2. P. 9–30.

- [32]. Obara K., Tohgi N., Mii S. et al. Hair-follicle-associated pluripotent stem cells derived from cryopreserved intact human hair follicles sustain multilineage differentiation potential // Scientific Reports. 2019. Vol. 9. № 1. P. 9326–9335.
- [33]. Bajpai V.K., Mistriotis P., Andreadis S.T. Clonal multipotency and effect of long-term in vitro expansion on differentiation potential of human hair follicle derived mesenchymal stem cells // Stem cell research. 2012. Vol. 8. № 1. P. 74–84.
- [34]. Wu J.J., Liu R.Q., Lu Y.G. et al. Enzyme digestion to isolate and culture human scalp dermal papilla cells: a more efficient method // Archives of dermatological research. 2005. Vol. 297. № 2. P. 60–67.
- [35]. Wang B., Liu X.M., Liu Z.N. et al. Human hair follicle-derived mesenchymal stem cells: Isolation, expansion, and differentiation // World journal of stem cells. 2020. Vol. 12. № 6. P. 462–470.
- [36]. Jahoda C.A., Whitehouse C.J., Reynolds A.J., Hole N. Hair follicle dermal cells differentiate into adipogenic and osteogenic lineages // Experimental dermatology. 2003. Vol. 12. № 6. P. 849–859.
- [37]. Betriu N., Jarrosson-Moral C., Semino C.E. Culture and differentiation of human hair follicle dermal papilla cells in a soft 3D self-assembling peptide scaffold // Biomolecules. 2020. Vol. 10. № 5. P. 684–701.
- [38]. Topouzi H., Logan N.J., Williams G., Higgins C.A. Methods for the isolation and 3D culture of dermal papilla cells from human hair follicles // Experimental dermatology. 2017. Vol. 28. № 6. P. 491–496.
- [39]. Kalabusheva E., Tersikh V., Vorotelyak E. Hair germ model in vitro via human postnatal keratinocyte-dermal papilla interactions: impact of hyaluronic acid // Stem Cells International. 2017. Vol. 2017. P. 9271869–9271883.
- [40]. Hirano S., Kageyama T., Yamanouchi M. et al. Expansion culture of hair follicle stem cells through uniform aggregation in microwell array devices// ACS Biomaterials Science & Engineering. 2023. Vol. 9. № 3. P. 1510–1519.
- [41]. Marazzi M., Crovato F., Bucco M., et al. GMP-compliant culture of human hair follicle cells for encapsulation and transplantation // Cell Transplantation. 2012. Vol. 21. № 1. P. 373–378.
- [42]. Chen P., Miao Y., Zhang F. et al. Nanoscale microenvironment engineering based on layer-by-layer self-assembly to regulate hair follicle stem cell fate for regenerative medicine // Theranostics. 2020. Vol. 10. № 25. P. 11673–11689.
- [43]. Chermnykh E.S., Vorotelyak E.A., Gnedeveva K.Y. et al. Dermal papilla cells induce keratinocyte tubulogenesis in culture // Histochemistry and cell biology. 2010. Vol. 133. P. 567–576.
- [44]. Huang C.F., Chang Y.J., Hsueh, Y.Y. et al. Assembling composite dermal papilla spheres with adipose-derived stem cells to enhance hair follicle induction // Scientific reports. 2016. Vol. 6. № 1. P. 26436–26448.
- [45]. Zhao J., Liu L.Q., Wang Y.J. et al. Treatment of alopecia by transplantation of hair follicle stem cells and dermal papilla cells encapsulated in alginate gels // Medical hypotheses. 2008. Vol. 70. № 5. P. 1014–1016.
- [46]. Hamida O.B., Kim M.K., Sung Y.K. et al. Hair Regeneration Methods Using Cells Derived from Human Hair Follicles and Challenges to Overcome // Cells. 2024. Vol. 14. № 1. P. 7.
- [47]. Chermnykh E.S., Vorotelyak E.A., Gnedeveva K.Y. et al. Dermal papilla cells induce keratinocyte tubulogenesis in culture // Histochemistry and cell biology. 2010. Vol. 133. P. 567–576.
- [48]. Gentile P., Scioli M.G., Bielli A. et al. Stem cells from human hair follicles: first mechanical isolation for immediate autologous clinical use in androgenetic alopecia and hair loss // Stem Cell investigation. 2017. Vol. 4. P. 58–68.
- [49]. Žnidarič M., Žurga Ž.M., Maver U. Design of in vitro hair follicles for different applications in the treatment of alopecia – a review // Biomedicines. 2021. Vol. 9. № 4. P. 435–454.
- [50]. Gentile P., Scioli M.G., Bielli A. et al. Platelet-rich plasma and micrografts enriched with autologous human follicle mesenchymal stem cells improve hair re-growth in androgenetic alopecia. Biomolecular pathway analysis and clinical evaluation // Biomedicines. 2019. Vol. 7. № 2. P. 27–43.
- [51]. Kiani M.T., Higgins C.A., Almquist B.D. The hair follicle: an underutilized source of cells and materials for regenerative medicine // ACS biomaterials science & engineering. 2017. Vol. 4. № 3. P. 1193–1207.
- [52]. Gentile P., Garcovich S., Perego F. et al. Autologous Micrografts Containing Nanovesicles, Exosomes, and Follicle Stem Cells in Androgenetic Alopecia: In Vitro and In Vivo Analysis Through a Multicentric, Observational, Evaluator-Blinded Study // Aesthetic Plastic Surgery. 2025. Vol. 49. № 1. P. 43–58.
- [53]. Peterson A., Nair, L.S. Hair follicle stem cells for tissue regeneration // Tissue engineering Part B: Reviews. 2022. Vol. 28. № 4. P. 695–706.

Z. B. KVACHEVA¹, I. B. VASILEVICH¹, A. G. POLESHKO¹, A. P. MUZYCHENKO², I. V. KUMOVA²

HAIR FOLLICLE STEM CELLS AND THEIR THERAPEUTIC POTENTIAL IN ALOPECIA TREATMENT

¹ State Scientific Institution "Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk, Republic of Belarus

² Educational Establishment "Belarusian State Medical University", Minsk, Republic of Belarus

Summary

The review is devoted to a new direction being developed in the treatment of alopecia - the use of a population of cultured stem cells of the hair follicle (HF) in stimulating hair growth. Modern data on the structure and functions of HF in hair morphogenesis are presented. The main cell populations of the HF are mesenchymal stem cells (MSC) of the dermal papilla (DP) and epithelial stem cells (EpSC) of the outer root sheath, the interaction of which leads to hair neogenesis. A number of researchers have found that the morphogenesis of the HF is initiated by the main cellular signaling pathways, including Wnt/ β catenin, sonic hedgehog (Shh), Notch and BMP. It has been established that the cell population with the ability to induce hair growth are DP cells. When culturing these cells, their induction capacity decreases. The conditions and mechanisms for increasing the induction of DP cells *in vitro* are considered. Disclosure of the mechanisms of intercellular interaction during the formation of the HF will allow us to determine new approaches to cell therapy for restoring the function of the HF and hair growth in people with alopecia.

Keywords: alopecia, hair follicle, stem cells, cell culture, regenerative potential.