

# КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

## ***в комбинированной терапии витилиго***

Витилиго — патология, которая пока еще с трудом поддается излечению, поэтому исследователи находятся в поиске новых методов. К наиболее интересным относят комбинированные программы. Одна из таких программ сочетает передовые технологии — клеточную и тканевую терапию — и традиционные аппаратные методы, в частности локальную NB UVB-терапию. Каков алгоритм реализации такой программы при лечении стабильной формы витилиго?



**ВЛАДИМИР ЦЕПКОЛЕНКО**, д.м.н., профессор кафедры дерматовенерологии Киевской национальной медицинской академии последипломного образования им. П.Л. Шупика, ген. директор Института пластической хирургии «Виртус»

**ЕКАТЕРИНА КАРПЕНКО**, врач-дерматовенеролог Института пластической хирургии «Виртус» г. Одесса, Украина

**В**итилиго — это часто встречаемое приобретенное нарушение пигментации кожи, характеризующееся резко ограниченными депигментированными участками.

Современные представления об этиопатогенезе витилиго вклю-

ожоги, механическую травму, влияние химических веществ, приводят к развитию аутоиммунного ответа, что провоцирует разрушение меланоцитов и последующую прогрессирующую депигментацию.

Гистологически наблюдается отсутствие или резкое снижение

и детей (Y. Zhang и соавт., 2016). Однако приведенные показатели слабо отражают истинную эпидемиологическую картину, так как основаны не на данных профилактического осмотра населения, а на количестве обращений пациентов в дерматологические центры.

Широкое распространение этой патологии во многих этнических группах и регионах, значительное влияние на психосоциальный статус пациентов и отсутствие надежных терапевтических методов обуславливают актуальность поиска новых, более эффективных методов лечения.



**Современные представления об этиопатогенезе витилиго включают иммунологические, генетические и нейрогенные аспекты. Во многих случаях причиной заболевания служит стресс, точкой приложения которого являются меланоциты.**

чают иммунологические, генетические и нейрогенные аспекты. Во многих случаях причиной заболевания служит стресс, точкой приложения которого являются меланоциты. Согласно преобладающей аутоиммунной гипотезе возникновения витилиго, различные триггерные факторы, включая солнечные

содержания меланина в меланоцитах именно в очагах витилиго (C. Shen и соавт., 2016).

Согласно литературным источникам, в мире распространенность витилиго составляет от 1 до 4%. И в последние годы отмечается увеличение числа больных, причем как взрослых, так

## **СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ВИТИЛИГО**

Современные протоколы лечения витилиго, признанные международным профессиональным сообществом дерматологов, включают определение



и лечение очагов хронической инфекции и сопутствующей патологии, назначение здоровой сбалансированной диеты (в частности, №15 по Певзнеру), транквилизаторов, седативных, вегетотропных, ферментных и витаминных препаратов, средств, улучшающих тканевый обмен, физиотерапии (электрофореза с медью, селективной фототерапии, низкоинтенсивной лазерной и ПУВА-терапии). Все перечисленные методы лечения витилиго имеют степень научной доказательности Б.

Согласно европейским стандартам (см. Европейское руководство по лечению дерматологических болезней), предусматривается следующее лечение витилиго:

- при сегментарном или ограниченном несегментарном витилиго (<2–3% поверхности тела):
  - в качестве терапии первой линии — исключение воздействия триггерных факторов, местную терапию кортикостероидами и ингибиторами кальционеврина;
  - в качестве терапии второй линии — локальную NB UVB-терапию (узкополосное УФ-излучение — Narrow Band UltraViolet B, 311 нм) или применение эксимерного лазера;
  - в качестве терапии третьей линии (при отсутствии эффекта предыдущего лечения) — хирургические техники;
- при несегментарном витилиго:
  - в качестве терапии первой линии — исключение воздействия триггерных факторов, NB UVB-терапия (3–9 месяцев) и ее комбинация с системной и местной терапией;
  - в качестве терапии второй линии — кортикостероиды

или иммуносупрессивная терапия системно;

- в качестве терапии третьей линии — хирургическая пересадка графтов кожи;
- в качестве терапии четвертой линии — депигментирующая терапия (гидрохинон, Q-switched лазер и т.д.) (A. Taieb и соавт., 2013).

Таким образом, в настоящее время в терапии витилиго используются безопасные методы, но они требуют проведения длительного курса, который составляет, как правило, от 1,5 до 2 лет.

толщину кожи, тонкие дермоэпидермальные сплит-графты, фолликулярный графтинг), и клеточная терапия (введение некультивируемых клеточных суспензий меланоцитов и кератиноцитов) (R. Falabella, M. I. Barona, 2008).

**Цель исследования** — сокращение периода лечения витилиго, обеспечение стабильности результатов и уменьшение количества осложнений при комбинированных методах терапии его стабильной формы и, следова-



**Широкое распространение витилиго во многих этнических группах и регионах, значительное влияние на психосоциальный статус пациентов и отсутствие надежных терапевтических методов обуславливают актуальность поиска новых, более эффективных методов лечения.**

Полностью вылечить витилиго крайне сложно. Так, например, при долгосрочном и последовательном применении NB UVB — метода, который считают одним из наиболее результативных, 75%-я и более репигментация достигается только у половины пациентов (M.D. Njoo, P. I. Spuls, J. D. Vos, 1998).

## КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ СТАБИЛЬНОЙ ФОРМЫ ВИТИЛИГО

В лечении стабильной формы витилиго, устойчивой к стандартному воздействию, в последнее время широко применяются дерматохирургические техники, такие как тканевая терапия (эпидермальный блистерный графтинг, панч-графтинг с забором трансплантата во всю

тельно, повышение эффективности медицинской помощи пациентам. Новые возможности в этом открывают клеточные технологии (В. А. Цепколенко, Е. С. Карпенко, 2014).

### Методы лечения и оценки его результатов

Нами был разработан алгоритм комбинированного лечения стабильной формы витилиго, который состоит из трех этапов:

- На 1-м этапе осуществляется индукция пигментации на донорском участке здоровой кожи (NB UVB 311 нм) в эстетически незначимых и естественно гиперпигментированных зонах (например, кожи большой половой губы), взятие образца кожи панчем и передача его в биотехнологическую лабораторию, а также интрадермальные инъекции плазмы, обогащенной тромбо-



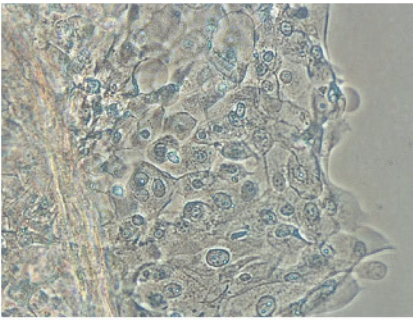


Рис. 1. Начальная фаза роста кератиноцитов и меланоцитов.

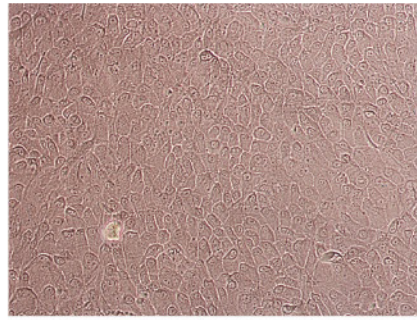


Рис. 2. Монослойная культура смеси кератиноцитов и меланоцитов, применяемая в лечении витилиго.

цитами (PRP), в очаги витилиго для создания высокой концентрации факторов роста, в том числе эпидермального фактора роста (EGF).

- На 2-м этапе:
  - а) через 3–5 недель после проведения 1-го этапа выполняем внутрикожное введение меланоцитарно-кератиноцитарной клеточной суспензии, разведенной в растворе PRP, с концентрацией 1 млн клеток на 1 см<sup>2</sup> депигментированного участка кожи (рис. 1, 2);
  - б) через 2–3 дня начинаем курс локальной фототерапии (NB UVB 311 нм), 3 процедуры в неделю.
- 3-й этап предполагает повторное введение клеточной суспензии, но не ранее чем через

2 месяца, в случае, если процент восстановленной пигментации составляет менее 50%.

Контроль качества введенных клеточных суспензий проводим методом проточной цитофлуориметрии с использованием специфических антител к меланоцитам (рис. 3).

Клиническую эффективность предложенного алгоритма оценивали:

- визуально;
- с помощью объективных методов:
  - цифровой дерматоскопии,
  - цифровой фотографии;
  - иммуногистохимическим методом с определением маркеров CD4, CD3, CD8, S100, Melan-A.

Также учитывалась субъективная оценка результатов пациентом.

### Результаты лечения и их обсуждение

В группе пациентов с витилиго, в которой применяли вышеописанный алгоритм терапии, значительно сократилось время лечения по сравнению с таковым в контрольной группе, вырос процент пациентов с полной репигментацией.

Примерно в 40% случаев пациентам с III и IV фототипом кожи по Фитцпатрику потре-

бовалось повторное введение клеток, что следует принимать во внимание при составлении программы лечения. Возможно, у таких пациентов следует использовать более высокие дозы клеток.

Широко применяемые традиционные методы лечения витилиго часто требуют длительного курса процедур и не дают гарантированного результата. Для достижения оптимального эффекта лечения стабильной формы витилиго мы предлагаем комбинированную методику, в основе которой лежит использование аутологичных меланоцитов и кератиноцитов. Суть ее заключается в подготовке донорского участка кожи (индукция пигментации или использование естественно гиперпигментированных зон), подготовке реципиентных участков витилиго (интрадермальные инъекции плазмы, обогащенной тромбоцитами, для создания высокой концентрации факторов роста) и собственно внутрикожного введения меланоцитарно-кератиноцитарной суспензии, разведенной в растворе PRP, в депигментированные участки кожи с последующей локальной фототерапией NB UVB 311 нм.

### ВЫВОДЫ

Комбинированная трехэтапная программа лечения витилиго с применением тканевой терапии, клеточных технологий и аппаратного светового метода (NB UVB) характеризуется высокой эффективностью (по сравнению с общепринятыми методами лечения витилиго), безопасностью (по сравнению с хирургическими методиками), сокращением сроков лечения, возможностью лечения значи-

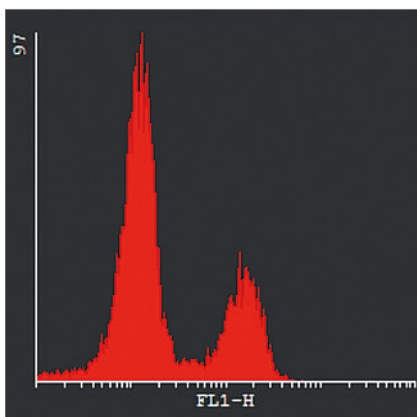


Рис. 3. Фенотип клеток CD44+CD49+CD24-MC1-R+ Anti-MC1-R (clone EPR6530, Rabbit MA).

тельных участков витилиго с помощью небольшого донорского участка, возможностью длительного хранения клеточного материала в криобанке и его дальнейшего использования. Представленная нами методика позволяет получить хороший

лечебный эффект уже после первого введения клеточной суспензии пациентам со стабильной формой витилиго.

Следующим перспективным этапом считаем определение оптимальных доз индивидуализированного клеточного пре-

парата для получения гарантированного результата (Ai-Young Lee, 2012).

## Клинический случай

**Пациентка Л., 45 лет,** обратилась по поводу белых пятен на коже разных участков тела.

**При осмотре** были отмечены пятна кожной депигментации с четкими границами на лице — в области глаз, вокруг рта, передней поверхности живота, обеих локтей. Размер пятен — от 3 до 8 см в диаметре.

**Из анамнеза** известно, что пятна появились 15 лет назад после нервного стресса, умеренно увеличивались в размере в течение следующих 5–7 лет. Последние 8–10 лет их размер не изменялся, зуда на пораженных участках кожи не было. Проведенные курсы лечения результата не дали.

**Диагноз:** витилиго, генерализованная стабильная форма.

**Лечение.** Проведена трехэтапная терапия согласно следующему алгоритму лечения:

- **1-й этап** — индукция пигментации в области правой ягодицы с помощью узкополосного NB UVB 311 нм, проведено 5 сеансов через день, начиная с 100 мДж/см<sup>2</sup>, дозу увеличивали на каждом сеансе на 20%. После этого произведен забор 2 участков (диаметром 3 мм) донорской кожи с помощью панч-биопсии

под местной инфильтрационной анестезией с передачей образцов в биотехнологическую лабораторию для культивирования и подготовки индивидуализированного меланоцитарно-кератиноцитарного препарата. Также на этом этапе было проведено двукратное внутрикожное введение PRP на предварительно анестезированный (с помощью аппликационной анестезии) участок кожи с витилиго 1 раз в 2 недели, плотность инъекций — 4–5 мм.

- **2-й этап** — внутрикожное введение индивидуализированного меланоцитарно-кератиноцитарного препарата из расчета 1 млн клеток на 1 см<sup>2</sup> депигментированного участка кожи в очаги витилиго. Со второго дня после введения — облучение очагов витилиго с помощью NB UVB 311 нм, курсом из 20 процедур, проведенных через день. По данным, полученным с помощью цифровых фотографий и дерматоскопии, зафиксировано уменьшение пятен витилиго на 90% и восстановление нормальной пигментации кожи (рис. 4).



**а**



**б**

Рис. 4. Пациентка Л., 45 лет, со стабильной формой витилиго: а — до, б — через 10 дней после окончания трехэтапного комбинированного лечения с применением тканевой терапии и клеточных технологий.