

Клеточная дерматобиология — эффективный инструмент терапии витилиго

👁 И.А. Усовецкий¹, Н.М. Шарова², Н.Г. Короткий²

¹ Кожно-венерологический диспансер № 9 г. Москвы

² Кафедра дерматовенерологии педиатрического факультета
Российского государственного медицинского университета им. Н.И. Пирогова

В статье представлены современные взгляды на механизмы депигментации при витилиго, обсуждаются некоторые методы лечения витилиго, эффективность которых недостаточна. Авторы разработали высокотехнологичный метод лечения некоторых форм витилиго — трансплантацию аутологичных культивированных меланоцитов. Представленные результаты продемонстрировали его высокую эффективность и перспективность.

Ключевые слова: депигментация, трансплантация, меланоциты, витилиго.

Витилиго — мультифакторный дерматоз, относящийся к дисхромиям кожи. Витилиго характеризуется внезапным появлением депигментированных пятен, склонных к периферическому росту и возникающих вследствие нарушения секреторной функции меланоцитов или их гибели. Хотя развитие заболевания не сопровождается каким-либо ухудшением физического состояния или субъективными симптомами и не представляет собой угрозы для здоровья, у подавляющего большинства больных витилиго появляются признаки тревожных аффективных расстройств, резко снижается настроение, ухудшаются коммуникативные способности, внимание фиксируется на косметических дефектах и поиске возможностей для лечения. Снижение качества жизни и отсутствие эффекта от применяемых лечебных средств еще более усугубляют психоэмоциональное состояние больных.

Витилиго является распространенным дерматозом: по данным Всемирной организации здравоохранения, болезнь возникает более чем у 1% населения. Заболевание может начаться в любом возрасте, но

приблизительно в 70% случаев дебют приходится на возраст 10–25 лет, а дети от рождения до 10 лет составляют 25% всех больных витилиго.

На вопрос о **причинах развития депигментации** до сих пор не удается ответить однозначно, несмотря на огромный интерес к этой проблеме. Известны группы факторов, которые могут влиять на нарушения пигментации. Наиболее значимыми внешними факторами являются стрессы, механическое раздражение, травмы, чрезмерное ультрафиолетовое облучение и химические агенты. Хронические заболевания, инфекционные и токсические агенты могут влиять на пигментообразующую функцию. Описаны случаи развития витилиго при аутоиммунном тиреоидите, ревматоидном артрите, красной волчанке, атопическом дерматите, заболеваниях печени инфекционного или токсического генеза, глистной инвазии. В то же время частота витилиго у этих больных не выше, чем в популяции в целом.

Наиболее признанными **теориями патогенеза витилиго** являются:

- теория иммунных нарушений (ведущая роль принадлежит клеточно-опосредованным реакциям);

Контактная информация: Шарова Наталья Михайловна, natalia.sharova@inbox.ru

- теория оксидативного стресса (свободные радикалы при недостаточности антиоксидантной защиты оказывают прямое повреждающее действие на кератиноциты и меланоциты);
- неврогенная теория (депигментация формируется вследствие функционального дефицита индоламиновой и катехоламиновой систем, возникающего в ответ на стресс, нарушений функционирования нейротрансмиссивной системы, пептидов и рецепторов), причем депигментация является одним из возможных симптомов соматизированных расстройств;
- генетическая теория (молекулярно-генетические исследования выявили значительное количество генов, которые могут быть вовлечены в молекулярный патогенез витилиго, однако назвать ключевые гены, ответственные за предрасположенность к заболеванию, пока невозможно).

На сегодняшний день предлагается множество **способов лечения** витилиго, однако в большинстве случаев это всего лишь компромисс, поэтому врачи и пациенты часто бывают недовольны результатами. Широко применяются различные варианты фототерапии, но это лечение длительное и связано с риском развития осложнений в виде стойкой гиперемии, гиперпигментации, опухолевых заболеваний кожи. В ряде случаев применяют топические глюкокортикостероиды, которые особенно эффективны в отношении недавно развившегося заболевания с незначительной площадью поражения. Некоторые наружные средства, оказывающие иммуносупрессивное действие, с успехом применяются у детей с различными формами витилиго и способствуют репигментации при длительном применении. Альтернативным способом лечения витилиго служат новые высокотехнологичные методы — трансплантация аутологичных культивированных и некультивированных меланоцитов.

Целью исследования стала разработка и оценка клинической эффективности нового метода трансплантации аутологичных культивированных меланоцитов.

Материал и методы

Под нашим наблюдением находился 21 больной различными формами витилиго (5 женщин и 16 мужчин) в возрасте от 15 до 46 лет. Давность заболевания составила от 5 до 39 лет. Дебют витилиго отмечен в детском возрасте у 18 больных, и только у 3 больных первые признаки заболевания появились в возрасте 30–38 лет.

Вероятными причинами манифестации витилиго 4 человека считали стресс и сильные эмоциональные переживания, у 3 больных были выявлены очаги хронической инфекции, у 4 — заболевания желудочно-кишечного тракта, у 5 человек различные формы витилиго обнаруживались среди близких родственников. В одном случае очаг депигментации появился в зоне операционного рубца, еще в одном — после ожога, а трое пациентов не могли связать появление депигментации с какими-либо факторами.

Прогрессирующий патологический процесс наблюдался у 5 больных — пациенты отмечали появление новых очагов депигментации в последние 6 мес. Трое пациентов связывали их возникновение с нервным стрессом, одна женщина обнаружила свежие очаги в период беременности, а еще один больной перенес тяжелую кишечную инфекцию.

Перед началом лечения все пациенты были полностью обследованы. После получения информированного согласия больным проводили **трансплантацию аутологичных меланоцитов**, которая включает несколько этапов.

Подготовка донорского участка. Проводили 4–6 сеансов ультрафиолетового облучения участка кожи ягодичной области до появления выраженной пигментации.

Забор донорского материала. Обрабатывали участок кожи 70° этиловым спиртом и под местной анестезией 1% раствором лидокаина производили взятие кожного материала (2–3 биоптата) с помощью перфоратора диаметром 5 мм, затем накладывали гемостатическую губку и давящую повязку.

Получение культуры меланоцитов. Биопсийный материал помещали в специальную среду, содержащую ферменты, антибиотики и антимикотики. После доставки материала в лабораторию клеточных технологий проводили тщательную промывку раствором Хенкса с антибиотиками и антимикотиками, после чего нарезали стерильными ножницами на более мелкие кусочки и обрабатывали смесью 0,1% диспазы и 0,1% коллагеназы I типа в течение 18 ч при температуре 4°C. С помощью тонкого пинцета отделяли эпидермис от дермы. Дополнительно обрабатывали 0,25% трипсином 20 мин при температуре 37°C. После блокирования действия трипсина фетальной телячьей сывороткой пропускали обработанный эпидермис через стерильный нейлоновый фильтр и центрифугировали фильтрат при 300 об/мин в течение 5 мин, осадок ресуспендировали в полной ростовой среде для кератиноцитов с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки и высевали полученную клеточную суспензию (200–300 тыс. клеток в 1 мл) в культуральные флаконы с коллагеновым покрытием. Концентрацию клеток определяли в камере Горяева, а их жизнеспособность — по эксклюзии трипанового синего. Из полученного при биопсии материала в процессе культивирования получали 10–50 млн. клеток, жизнеспособность которых составляла не менее 96%. Культура клеток была свободна от фибробластов, которые элиминировались в процессе культивирования.

Через 21 день свежая культура образовывала монослой. В культуре содержались как эпидермальные меланоциты, так и меланоциты волосных фолликулов, которые являются основным резервным пулом меланоцитов, способных к активной про-

лиферации и дифференцировке как спонтанно, так и под влиянием внешних стимулов. Готовили суспензию культивированных клеток.

Введение меланоцитов в очаги депигментации проводили с использованием папульной техники внутриэпидермально по всей площади очага. Обкалывание осуществляли с шагом 5 мм. Обкалывание очагов депигментации проводили трижды, 1 раз в 5–7 дней.

Результаты и обсуждение

За развитием реакции на введение культивированных аутологичных меланоцитов наблюдали в течение 12 нед. У всех больных отмечалась положительная динамика в течение всего периода наблюдения. На 7–9-й день после введения суспензии культивированных меланоцитов появлялись первые единичные участки репигментации размерами до 3–4 мм, у 4 пациентов перифолликулярная репигментация отмечалась на 14–16-й день после первого введения. У 2 пациентов наблюдалась выраженная реакция на введение клеточной суспензии в виде ограниченной эритемы и отека, однако единичные репигментированные участки незначительных размеров появились лишь через 4–6 нед после трансплантации. Дальнейшие наблюдения показали более интенсивное восстановление обычной окраски кожи в патологических очагах, причем наряду с перифолликулярной репигментацией сглаживались границы между нормальной и депигментированной кожей (разрушение гиперпигментированного венчика).

Через 12 нед после проведенной терапии у 17 больных (81%) полностью восстановился нормальный цвет кожи в очагах депигментации, в которые вводили суспензию культивированных аутологичных меланоцитов. У 3 пациентов (14%) наблюдалась репигментация в очагах на 65–80%, а у 1 пациента отмечено восстановление пигментации на 50–70%.

Наиболее быстро репигментация происходила у больных со II и III фототипом кожи (по Фитцпатрику). У 2 пациентов с I фототипом кожи в процессе ультрафиолетового облучения перед трансплантацией возникла эритема, а позднее гиперпигментация, выраженная слабее, чем у больных со смуглой кожей. У этих пациентов не достигнута 100% репигментация после трансплантации культивированных аутологичных меланоцитов. Вероятно, у пациентов с I фототипом в коже содержится меньшее число меланоцитов и они обладают не столь выраженной синтетической активностью.

Трансплантация аутологичных культивированных меланоцитов оказалась высокоэффективным методом — у большинства больных восстановление нормальной окраски кожи наблюдалось в короткие сроки от начала лечения. Дальнейшее наблюдение за этой группой пациентов в течение двух лет показало стойкие положительные результаты. Рецидивов депигментации не наблюдали. Таким образом, трансплантация аутологичных культивированных меланоцитов при витилиго является наиболее перспективным способом восстановления нормальной пигментации кожи.

Рекомендуемая литература

- Барабой В.А. Структура, биосинтез меланоцитов, их биологическая роль, перспективы применения // Успехи соврем. биол. 2000. № 117. С. 86–92.
- Дворянкова Е.В., Ткаченко С.Б. Роль сопутствующей патологии и факторов риска в разви-

тии и течении витилиго // Клин. дерматол. и венерол. 2006. № 1. С. 63–65.

- Кузьмина Т.С., Ткаченко С.Б., Потекаев Н.Н. Витилиго: патогенетическое обоснование использования лазера // Экспер. и клин. дерматокосметол. 2005. № 4. С. 14–16.
- Лусс Л.В., Некрасов А.В., Пучкова Н.Г. и др. Роль иммуномодулирующей терапии в общеклинической практике // Иммунология. 2000. № 5. С. 34–38.
- Хасанов Д.С., Тэн В.Н., Ваисов А.Ш., Рахматов А.Б. Дифференцированные методы лечения больных витилиго // Вестн. дерматол. и венерол. 2002. № 3. С. 32–34.
- Alkhateeb A., Fain P.R., Thody A. et al. Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their relatives // Pigment. Cell. Res. 2003. V. 16. P. 208–214.
- Chen Y.F., Chang J.S., Yang P.Y. et al. Transplantation of cultured autologous pure melanocytes after laser-abrasion for the treatment of segmental vitiligo // J. Dermatol. 2000. V. 27. P. 434–439.
- Chen Y.F., Yang P.Y., Hu D.N. et al. Treatment of vitiligo by transplantation of cultured pure melanocyte suspension: analysis of 120 cases // J. Am. Acad. Dermatol. 2004. V. 51. № 1. P. 68–74.
- Falabella R. Surgical approaches for stable vitiligo // Dermatol. Surg. 2005. V. 31. № 10. P. 1277–1284.
- Huggins R.H., Schwartz R.A., Janniger C.K. Childhood vitiligo // Cutis. 2007. V. 79. № 4. P. 277–280.
- Kekourou T. Vitiligo in children // World J. Pediatr. 2009. V. 5. № 4. P. 265–268.
- Schallreuter K.U., Bahadoran P., Picardo M. et al. Vitiligo pathogenesis: autoimmune disease, genetic defect, excessive reactive oxygen species, calcium imbalance, or what else? // Exp. Dermatol. 2008. V. 17. № 2. P. 139–160.

Cell Dermatology — an Effective Instrument of Vitiligo Treatment

I.A. Usovetskiy, N.M. Sharova, and N.G. Korotkiy

The article reflects modern views on mechanisms of depigmentation during vitiligo and methods of vitiligo treatment which are not quite effective yet. Authors developed hi-tech method for treatment of some forms vitiligo, namely a transplantation of autologous cultivated melanocytes. The results demonstrated its high efficiency.

Key words: depigmentation, transplantation, melanocytes, vitiligo.