

# Возможности регенеративной медицины в лечении больных витилиго

А.А. Кубанова, В.А. Волнухин, Д.В. Прошутинская, М.Б. Жилова, В.В. Чикин, А.Э. Карамова, Р.Р. Сайтбурханов

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России  
107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6

В обзоре проанализированы литературные данные по эффективности применения у больных витилиго методов тканевой инженерии и клеточной трансплантации аутологичных меланоцитов. Представлены общие принципы лечения и характерные особенности современных методов трансплантации меланоцитов.

Ключевые слова: **витилиго, трансплантация аутологичных меланоцитов.**

Контактная информация: volnuhin@cnikvi.ru. Вестник дерматологии и венерологии 2014; (3): 43—52.

# Potential of regenerative medicine for treatment of vitiligo patients

A.A. Kubanova, V.A. Volnukhin, D.V. Proshutinskaya, M.B. Zhilova, V.V. Chikin, A.E. Karamova, R.R. Saitburkhanov

State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of healthcare of the Russian Federation  
Korolenko str., 3, bldg 6, Moscow, 107076, Russia

The article presents a review of publishes sources on the efficacy of methods such as tissue engineering and cellular transplantation of autologous melanocytes for treatment of vitiligo patients. The article describes general principles of treatment and particular features of current melanocyte transplantation methods.

Key words: **vitiligo, transplantation of autologous melanocytes.**

Corresponding author: volnuhin@cnikvi.ru. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2014; 3: 43—52.

■ Бурное развитие и значительные успехи в области клеточной биологии, экспериментальной эмбриологии, генной инженерии привели к формированию новой области медицины — регенеративной медицины, которая включает в себя научно обоснованные и безопасные подходы к созданию новых и восстановлению структуры и функций поврежденных в результате болезни или травмы тканей, органов, систем. Целью регенеративной медицины является замена или регенерация человеческих клеток, тканей или органов. Подобная замена способствует восстановлению утраченной нормальной функции. Важным изменением в парадигме регенеративной медицины является переход к клеточной терапии. Это кардинально меняет существующую технологию, способствуя развитию новой тактики лечения в здравоохранении, основанной на применении живых клеток [1, 2]. Различные методы клеточной трансплантации применяются в зарубежной практике для лечения больных витилиго, не отвечающих на другие методы терапии (средневолновую ультрафиолетовую терапию, ПУВА-терапию, лечение топическими глюкокортикостероидными препаратами, топическими ингибиторами кальциневрина). Целью данного вида лечения является восстановление в очагах витилиго популяции функционально активных меланоцитов путем пересадки аутологичных эпидермальных клеток (меланоцитов или меланоцитов совместно с кератиноцитами), полученных из участков непораженной, нормально пигментированной кожи больного. В основе методов клеточной трансплантации лежит механический перенос зрелых клеток и недифференцированных клеток-предшественников меланоцитов в пораженную кожу с применением промежуточных методов рекультивации или без них, с использованием основы-носителя или без нее, в связи с чем она не оказывает влияния на все патогенетические, в том числе аутоиммунные механизмы развития витилиго, не предотвращает прогрессирование и развитие обострений заболевания и не гарантирует излечения.

### Исторические аспекты

Впервые возможность применения пересадки трансплантатов кожи с целью стимуляции пигментации была установлена в 1941 г. M.L. Lewin и S.M. Peck в экспериментах на морских свинках [3]. В 1952 г. G.A. Spencer и J.A. Tolmach описали случай успешного лечения больной витилиго методом пересадки полнослойных трансплантатов кожи в очаги депигментации [4]. В 1964 г. P.N. Vehl опубликовал результаты пересадки больным витилиго тонких дермо-эпидермальных трансплантатов Тирша [5].

R. Falabella в 1971 г. предложил использовать для лечения витилиго трансплантацию покрывшейся пузырей [6], в 1983 г. — пересадку минитрансплантатов [7]. В 1989 г. R. Falabella и соавт. впервые показали эф-

фективность использования с целью репигментации кожи пересадки культивированных эпидермальных трансплантатов [8].

Y. Gauthier и J.E. Surleve-Bazeille в 1992 г. описали новый метод трансплантации — пересадку суспензии некультивированных меланоцитов и кератиноцитов [9], который в 1998 г. был усовершенствован M.J. Olsson и L. Juhlin [10].

В 1992 г. M.J. Olsson и L. Juhlin впервые осуществили трансплантацию в очаги витилиго чистой культуры аутологичных меланоцитов [11].

В 1998 году G.Y. Na и соавт. был предложен метод лечения витилиго с использованием трансплантации волосяных фолликулов [12]. W. Vanscheidt и T. Hunziker в 2009 г. предложили метод трансплантации некультивированных клеток наружного корневого влагалища волосяных фолликулов [13].

### Биология меланоцитов

Клетка — предшественник меланоцитов — мультипотентная стволовая клетка нервного гребня — происходит из нервного гребня, совокупности клеток, образовавшейся в процессе эмбриогенеза из краевых отделов нервного желобка во время его замыкания в нервную трубку [14,15]. В дальнейшем в процессе клеточной сегрегации и дифференцировки под действием различных сигнальных путей образуется бипотентная глиально-меланоцитарная стволовая клетка [16]. Дальнейшая додифференцировка к линии меланоцитов зависит от транскрипции генов, кодирующих MITF, EDNRB и c-kit [17] (рис. 1).

EDNRB — рецептор к эндотелину В — играет важную роль в премиграторных процессах и, непосредственно, миграции клеток нервного гребня и коэкспрессируется у меланобластов с маркером *dst*. Низкая активность EDNRB в экспериментах на мышах в этот период приводит к почти полному отсутствию меланоцитов в дальнейшем [18, 19].

MITF — фактор транскрипции микрофтальмии — активирует гены, участвующие в производстве пигмента, например TYR, *tyrp1* и *tyrp2* и обеспечивающие выживаемость меланоцитов, например *Bcl-2* [20].

C-kit — белковая тирозинкиназа, рецептор фактора роста стволовых клеток — имеет важное значение для миграции, клеточного выживания, пролиферации и дифференцировки меланоцитов [21]. У людей с гетерозиготной мутацией гена KIT приводит к развитию расстройства пигментации, известного как пьебальдизм [22].

Полностью дифференцированные меланоциты характеризуются активностью тирозиназы (TYR), тирозиназы связанных белков 1 и 2 (*tyrp1* и *tyrp2*), имеют многочисленные зрелые меланосомы и хорошо развитые дендриты и располагаются в основном в эпидермисе, дерме и волосяном фолликуле [23].

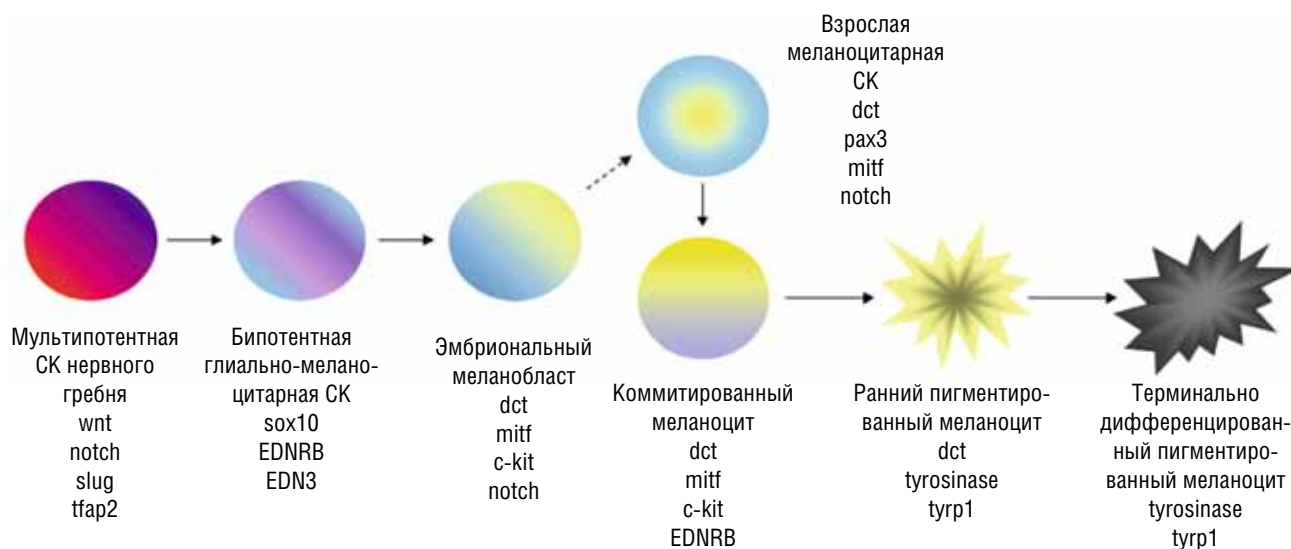


Рис. 1.

Ранняя дифференцировка клеток нервного гребня зависит от взаимодействия между сигнальными путями wnt, notch и bmp. Транскрипция slug совпадает с миграцией клеток из нервного гребня. Постепенное ограничение к линии меланобластов зависит от экспрессии MITF, EDNRB и c-kit. Эмбриональный меланоцит и взрослая меланоцитарная стволовая клетка имеют некоторые перекрывающиеся молекулярные маркеры

Дифференцировка клеток носит неоднаправленный характер, так как при определенных стимулах *in vitro* или во время регенерации дифференцированные клетки могут восстановить свойства незрелых клеток [24].

В эпидермисе мышей c-kit+ клетки дифференцируются в MITF+ и/или tyrp-2+ клетки, а затем в tyrp-1+ клетки после воздействия УФ-излучения [25]. В коже человека наличие Kit реактивных клеток последовательно продемонстрировано в базальном слое эпидермиса, воронке волосяного фолликула и в эккринных потовых железах и их выводных протоках. В воронке волосяного фолликула c-kit+, Vcl-2+, tyrp1- клетки представляют собой резерв меланоцитов-предшественников, за счет которых осуществляется процесс репигментации волос и эпидермиса [26] (рис. 2).

### Характеристика методов трансплантации аутологичных меланоцитов

В настоящее время применяется несколько различных подходов к трансплантации аутологичных меланоцитов. Все существующие методы подразделяют на 2 основные группы: методы пересадки тканевых трансплантатов и методы пересадки клеточных трансплантатов (табл. 1).



Рис. 2.

Схематичное изображение волосяного фолликула. Меланоцитарные стволовые клетки расположены в верхней перманентной части волосяного фолликула, включая зону «buldge», зрелые дифференцированные меланоциты расположены в области волосяной луковицы

Таблица 1 Методы трансплантации аутологичных меланоцитов

Методы пересадки тканевых трансплантатов	Методы пересадки клеточных трансплантатов
1. Пересадка мини-трансплантатов (пересадка полнослойных лоскутов, пункционная трансплантация, minigrafting/full thickness punch grafting).	1. Трансплантация суспензии некультивированных эпидермальных клеток — кератиноцитов и меланоцитов (transplantation of non-cultured epidermal cell suspension).
2. Трансплантация тонкого или ультратонкого расщепленного кожного лоскута (split-thickness skin grafting).	2. Пересадка культивированных эпидермальных трансплантатов (transplantation of cultured epidermal grafting).
3. Трансплантация покрывшей эпидермальных пузырей (epidermal suction blister grafting).	3. Трансплантация культивированных аутологичных меланоцитов (transplantation of cultured autologous melanocytes).
4. Трансплантация волосяных фолликулов (single hair grafting, hair follicle transplantation).	4. Трансплантация суспензии некультивированных клеток наружного корневого влагалища волосяных фолликулов (transplantation of non-cultured extracted hair follicle outer root sheath cell suspension).

### Методы пересадки клеточных трансплантатов

В последние годы в связи с развитием регенеративной медицины все большее внимание исследователей привлекают методы клеточной ауто трансплантации, основанные на пересадке в очаги депигментации клеточных трансплантатов, содержащих зрелые меланоциты и меланоциты-предшественники.

В современной практике применяют пересадку как культивированных, так и некультивированных клеточных трансплантатов (см. табл. 1).

При выполнении этих методов в кусочках кожи, взятых из донорских зон, проводят разделение кератиноцитов и меланоцитов (путем трипсинизации и центрифугирования). Полученные клетки пересаживают в виде суспензии в реципиентные зоны или культивируют с целью создания культуры эпидермальных клеток или чистой культуры меланоцитов. При культивировании клеток используют различные среды, содержащие антибиотики, ростовые факторы, бычью сыворотку с добавлением сыворотки пациента и др. [32, 33].

Основным преимуществом методов пересадки клеточных трансплантатов является возможность лечения значительных по площади очагов витилиго при использовании небольших фрагментов донорской кожи. К недостаткам следует отнести сложность выполнения процедур и возможные неудачи при культивировании клеток [34]. Кроме того, эти методы являются дорогостоящими и требуют применения специального оборудования.

**Трансплантация суспензии некультивированных эпидермальных клеток (син. трансплантация суспензии клеток базального слоя, transplantation of non-cultured epidermal cell suspension).** Метод заключается в получении из небольших дермо-эпидермальных пластов кожи суспензии эпидермальных клеток (кератиноцитов и меланоцитов), которая пересаживается в зону депигментации. Техника выполнения метода относительно проста [9]. Небольшие лоскуты кожи, взятые из донорской зоны, подвергаются трипсинизации

(погружаются на 18 часов в 0,25% раствор трипсина). После ферментативного расщепления осуществляют механическое отделение эпидермиса от дермы, затем в результате проведения нескольких процедур получают суспензию кератиноцитов и меланоцитов. В очагах депигментации с помощью аппликаций жидкого азота формируют пузыри, в которые вводят приготовленную суспензию эпидермальных клеток. Репигментация кожи развивается через 25—30 дней.

M.J. Olsson и L. Juhlin предложили похожую технологию приготовления клеточной суспензии, предусматривающую использование питательной среды для стимуляции роста меланоцитов, а также подготовку депигментированной кожи методом дермабразии [10].

Трансплантация суспензии некультивированных эпидермальных клеток проводится в амбулаторных условиях и не требует оборудования лаборатории для культивирования клеток, в связи с чем считается сравнительно недорогим методом. Достоинством метода является возможность лечения очагов поражения, превышающих размеры донорского участка в 5—10 раз [10, 35—37], а также сложных анатомических областей тела — лица, коленных и локтевых суставов и др. [38].

Побочные эффекты наблюдаются редко; среди них следует отметить возможность развития в очагах трансплантации стойкой эритемы (существующей в течение 6 месяцев).

Описаны модификации метода с использованием «шестиугольного планшета» [39], а также спрея ReCell (Spray-On Skin, Avita Medical, Великобритания), содержащего клеточную суспензию [40]. Применение указанных модификаций позволяет сократить количество необходимых реагентов, время подготовки суспензии клеток и стоимость процедур.

**Трансплантация культивированных эпидермальных трансплантатов (transplantation of cultured epidermal grafting).** При лечении данным методом

с помощью дерматомы осуществляют забор маленького лоскута кожи из донорской зоны, который подвергают трипсинизации. После отделения эпидермиса от дермы получают клеточную суспензию. Последующие манипуляции возможны либо с неизменной суспензией, либо выделенной из нее культурой меланоцитарных клеток. В течение нескольких недель ее культивируют, затем переносят на специальную подложку в виде эпидермальной мембраны. Использование специальной основы должно обеспечить наиболее благоприятные для жизнедеятельности клеток условия, что снижает время репигментации и делает ее наиболее полной. В качестве основы может быть использован полностью синтетический препарат на основе гиалуроновой кислоты (например «Laserskin», Italy), синтетическая основа, покрытая дермальным коллагеном крупного рогатого скота («Vitrogen», USA) или отмытая человеческая амниотическая мембрана. Культуру клеток вместе с основой пересаживают на подготовленную дермабразией или другими способами депигментированную кожу [28—30].

**Трансплантация культивированных аутологичных меланоцитов (transplantation of cultured autologous melanocytes).** Метод заключается в выделении из трансплантата, полученного из нормально пигментированной кожи, функционально активных меланоцитов, которые культивируют в течение 15—30 дней с целью получения чистой культуры [33, 41, 42]. Выращенная культура меланоцитов распределяется в реципиентных зонах по поверхности депигментированной кожи (плотность распределения может составлять 1000—2000 меланоцитов/мм<sup>2</sup>).

По сравнению с другими методами трансплантации цвет репигментации, образующийся при пересадке культивированных меланоцитов, наиболее соответствует пигментации непораженных участков кожного покрова (Olson M.J., 2002). Однако в ряде случаев может сформироваться гиперпигментация кожи.

Безусловным достоинством трансплантации культивированных меланоцитов является возможность получения из небольшого фрагмента донорской кожи популяции клеток, достаточной для трансплантации в крупные очаги витилиго. Так, культура меланоцитов, полученная из кусочка кожи площадью 1 см<sup>2</sup>, достаточна для лечения очага поражения площадью 500 см<sup>2</sup>. Вместе с тем этот метод является дорогостоящим; для его проведения требуется специально оборудованная лаборатория и квалифицированный персонал.

**Трансплантация суспензии некультивированных клеток наружного корневого влагалища волосяных фолликулов (transplantation of non-cultured extracted hair follicle outer root sheath cell suspension).** Данный метод начал применяться в клинической практике сравнительно недавно [11]. Он основан на использовании клеток наружного корневого влагалища волосяных фолликулов в качестве

источника репопуляции активных меланоцитов и их предшественников [43]. Забор волос осуществляют с кожи затылочной области волосистой части головы и только в фазу анагена. Применение такой технологии позволяет избежать роста нежелательных волос в зонах трансплантации и длительных манипуляций с клетками *in vitro*, а также получить значительно большее количество активных меланоцитов по сравнению с другими методами пересадки. Согласно опубликованным данным, пересадка 20 фолликулярных единиц дает возможность восстановить пигментацию в очаге поражения площадью 25 см<sup>2</sup>.

### Общие принципы трансплантации аутологичных меланоцитов

Поскольку витилиго является хроническим аутоиммунным заболеванием, трансплантация аутологичных меланоцитов не должна являться методом первого выбора при лечении заболевания.

При назначении методов трансплантации необходимо проводить тщательный отбор пациентов с учетом показаний и противопоказаний. В клинической практике при отборе больных используют следующие критерии (табл. 2).

*Формы витилиго.* Трансплантация аутологичных меланоцитов применяется большим сегментарным, фокальным, акрофациальным и несегментарным витилиго для лечения ограниченных очагов поражения. Наиболее высокие результаты пересадки аутологичных меланоцитов наблюдаются у больных сегментарным и фокальным витилиго с небольшой площадью поражения и локализацией на лице, шее, груди. При лечении больных сегментарным (унилатеральным) витилиго хорошие и отличные результаты (репигментация 70—100% площади поражения) наблюдаются у 60—100% пациентов, в то время как при несегментарном витилиго аналогичные результаты достигаются лишь у 50% пациентов [40]. По мнению Y. Gauthier, L. Benzekri, при лечении несегментарного витилиго неполная репигментация наблюдается у 20% больных независимо от применяемого метода трансплантации [37].

*Стационарная стадия заболевания.* Вопрос о стабильности течения витилиго является основополагающим: стойкая репигментация после трансплантации развивается в основном при отсутствии прогрессирования заболевания. Лечение пациентов в активной стадии заболевания обычно оказывается неудовлетворительным. Вместе с тем до сих пор нет однозначного мнения о критериях стабильного состояния витилиго. По данным разных авторов, допустимый период отсутствия прогрессирования заболевания должен составлять от 6 месяцев до 3 лет (в среднем 1—2 года).

*Возраст больного.* Наиболее высокая эффективность наблюдается у лиц молодого возраста. Однако, по мнению большинства экспертов, хирургическое лечение не рекомендуется назначать детям, больным витилиго.

Таблица 2

Критерии отбора больных для проведения трансплантации аутологичных меланоцитов

Сегментарное, фокальное, акрофациальное и несегментарное витилиго  
 Стационарная стадия заболевания (отсутствие прогрессирования в течение минимум 1—2 лет)  
 Отсутствие эффекта от применения других методов терапии  
 Указания в анамнезе на спонтанную репигментацию кожи в очагах витилиго  
 Отсутствие склонности к изоморфным реакциям (феномену Кебнера)  
 Возраст старше 12 лет  
 Положительный тест с пересадкой мини-трансплантатов\*  
 Мотивация больного к лечению

*Примечание.* \* Тест с пересадкой мини-трансплантатов проводится с целью определения ответа пациента на данный вид лечения. При выполнении теста у больного осуществляют забор небольших трансплантатов, которые пересаживают в очаг витилиго, а затем наблюдают за процессом приживления в течение 2—3 месяцев.

*Отсутствие эффекта от применения других методов терапии.* Методы трансплантации применяются главным образом больным, резистентным к другим методам терапии.

*Отсутствие у больного склонности к развитию изоморфных реакций (феномена Кебнера).* Отсутствие у больного склонности к развитию изоморфных реакций при травматизации или раздражении кожи является одним из основных критериев отбора больных для проведения трансплантации меланоцитов.

*Мотивация пациента к лечению.* Как и при любой хирургической процедуре, при планировании лечения с применением методов трансплантации следует учитывать психологическое состояние больного, имеющиеся противопоказания к их назначению (табл. 3), а также мотивацию пациента к лечению. Перед началом лечения необходимо получить информированное согласие больного.

Согласно литературным данным, лучшие результаты лечения достигаются при использовании менее инвазивных методов пересадки. Тем не менее идеальный косметический эффект наблюдается редко. Процедуры трансплантации необходимо выполнять в стерильных условиях. Работа с клеточными культурами должна проводиться с соблюдением стандартов GMP. Образующаяся в результате лечения репигментация в очагах витилиго может сохраняться длительное время (5—7 лет и более).

При всех методах трансплантации (кроме пересадки полнослойных лоскутов) реципиентные зоны предварительно подготавливают, удаляя поверхностные слои эпидермиса (иногда вплоть до верхушек дермальных сосочков). Удаление эпидермиса проводят посредством дермабразии, абляции лазерами (углекислотным, эрбиевым), ультразвуком или радиоволнами, а также путем формирования пузырей (при воздействии на кожу отрицательным давлением, теплом, химическими реагентами, ПУВА-терапией, жидким азотом).

После пересадки трансплантатов необходима надлежащая иммобилизация реципиентных зон (в течение 4—14 дней) для предупреждения их смещения [44]. В течение минимум 7 дней больным назначают терапию антибиотиками и противовоспалительными средствами.

Ряд авторов рекомендуют для стимуляции пролиферации меланоцитов и процессов меланогенеза проводить облучение зон трансплантации ультрафиолетовым светом. С этой целью через 2—3 недели после эпителизации раневых дефектов применяют ПУВА-терапию, узкополосную фототерапию с длиной волны 311 нм, облучение ультрафиолетовым лазером с длиной волны 308 нм, интегральным или солнечным светом [27, 32, 45—48].

Следует иметь в виду, что выбор того или иного метода трансплантации зависит не только от площади поражения, но и локализации очагов витилиго. Со-

Таблица 3

Противопоказания к трансплантации аутологичных меланоцитов

Прогрессирование витилиго  
 Положительный феномен Кебнера  
 Склонность к образованию келоидных рубцов  
 Посттравматическая гиперпигментация в анамнезе  
 Беременность  
 ВИЧ  
 Гепатит В и С  
 Возраст младше 12 лет

гласно литературным данным, при лечении таких областей тела, как тыльная поверхность кистей и стоп, колени и локти, эффективность методов трансплантации обычно невысокая [49]. У некоторых больных с поражением нескольких областей тела требуется применение 2 различных методов трансплантации.

Считается также, что результаты лечения больных с I и II фототипом кожи хуже, чем пациентов, имеющих другие типы кожи [50].

Поскольку пересадка аутологичных меланоцитов относится к инвазивным методам лечения, следует учитывать возможность ухудшения состояния кожи в реципиентных зонах после пересадки трансплантатов [51].

### Побочные эффекты и осложнения

При проведении трансплантации аутологичных меланоцитов больным витилиго нередко наблюдаются различные побочные эффекты и осложнения, которые могут развиваться как в донорской зоне, так и в зоне трансплантации (табл. 4). Эти нежелательные явления значительно ограничивают возможности применения методов трансплантации.

Наибольшее количество побочных эффектов, в том числе косметических дефектов (образование рубцов, неравномерной по структуре и цвету кожи в виде «булыжной мостовой» или «узора в горошек» и др.), наблюдается при пересадке мини-трансплантатов. Методы клеточной трансплантации обладают меньшим количеством побочных эффектов по сравнению с методами тканевой трансплантации. Однако их безопасность в отсроченный период не доказана. Среди экспертов существует мнение о том, что некоторые среды для культивирования клеток (tetradecanoylphorbol acetate, отдельные ростовые факторы и др.) обладают мутагенным действием [32, 52], а трансплантация культивированных меланоцитов может ассоциироваться с повышенным риском развития новообразований кожи [53].

### Рандомизированные контролируемые исследования

Анализ сравнительной эффективности и отдаленных результатов применения различных методов трансплантации у больных витилиго затруднен, поскольку во многих работах авторы использовали собственные технические приемы и модификации методики проведения процедур. Кроме того, не унифицированы методы и сроки оценки полученных результатов. В связи с этим имеющаяся в настоящее время доказательная база не позволяет определить оптимальный по эффективности и безопасности метод трансплантации аутологичных меланоцитов.

Ряд опубликованных работ посвящен изучению эффективности применения при лечении витилиго методов пересадки клеточных трансплантатов.

R. Czajkowski при лечении очагов витилиго на тыльной поверхности кистей и нижних конечностях не выявил различий в эффективности трансплантации культивированных меланоцитов и покрывок пузырей [34]. Однако выделить культуру меланоцитов при культивировании клеток удалось только у 6 из 10 наблюдавшихся больных. По мнению автора, применение метода пересадки покрывок пузырей более предпочтительно для лечения сложных областей тела, таких как тыльная поверхность кистей и нижние конечности, поскольку он прост в выполнении, недорогой, не требует много времени для трансплантации и не вызывает серьезных осложнений.

В двух рандомизированных исследованиях выявлены преимущества применения у больных витилиго метода пересадки суспензии некультивированных эпидермальных клеток по сравнению с другими методами трансплантации.

A. Budania и соавт. достигли более высоких результатов лечения данным методом по сравнению с пересадкой покрывок пузырей: отличные результа-

Таблица 4

Побочные эффекты и осложнения, развивающиеся при проведении трансплантации аутологичных меланоцитов

Побочные эффекты и осложнения, развивающиеся в донорской зоне	Побочные эффекты и осложнения, развивающиеся в зоне трансплантации
Гиперпигментация кожи Рубцы Инфицирование Изоморфная реакция (феномен Кебнера) Постоперационные боли	Гиперпигментация кожи Гипопигментированный ободок Рубцы Эффект «булыжной мостовой» (неоднородная по структуре кожа) Неоднородная пигментация (пестрая окраска кожи) Контактный дерматит Инфицирование Милиумподобные кисты Изоморфная реакция (феномен Кебнера) Утолщенный периферический край Отторжение трансплантата Стойкая эритема Экхимозы, гематома

ты (репигментация 90—100% площади поражения) наблюдались соответственно в 71 и 27% очагов витилиго ( $p = 0,002$ ) [54]. Снижение после лечения дерматологического индекса качества жизни также было более значимым в группе клеточной трансплантации ( $p = 0,045$ ). В то же время авторы не выявили между наблюдавшимися группами различий в оттенке репигментации кожи. Ни у одного из больных в донорской и реципиентной зонах не наблюдалось инфицирования кожи, развития рубцов или милиумподобных кист.

В работе С. Singh и соавт. при сравнении метода трансплантации суспензии некультивированных эпидермальных клеток с методом пересадки некультивированных клеток наружного корневого влагалища волосных фолликулов не было выявлено статистически значимых различий в их эффективности: репигментация 90—100% площади поражения была достигнута соответственно в 83 и 65% очагов витилиго, репигментация более 75% площади поражения — в 92 и 78% очагов [55]. Однако удовлетворенность больных результатами лечения была более высокой в группе, получавшей трансплантацию суспензии некультивированных эпидермальных клеток.

Вместе с тем в двух других рандомизированных, плацебо-контролируемых исследованиях эффективности метода пересадки суспензии некультивированных эпидермальных клеток получены противоречивые результаты.

Так, N. van Geel и соавт. провели сравнительное изучение эффективности пересадки суспензии некультивированных эпидермальных клеток и нанесения на кожу раствора плацебо (среды культивирования меланоцитов и гиалуроновой кислоты). Перед пересадкой клеток кожа в реципиентных зонах подвергалась лазерной абляции, а спустя 3 недели после нее больные в течение 2 месяцев получали узкополосную фототерапию с длиной волны 311 нм или ПУВА-терапию. Через 12 месяцев после лечения в зонах трансплантации были констатированы более высокие результаты по сравнению с контрольными участками кожи: репигментация более 70% площади поражения наблюдалась соответственно в 77 и 0% очагов витилиго ( $p = 0,002$ ) [36]. Полученные данные позволили авторам сделать вывод о том, что репигментация кожи, сформировавшаяся в опытных очагах витилиго, являлась следствием трансплантации клеток, а не была обусловлена действием лазерной абляции, плацебо и фототерапии.

Другая группа авторов провела сравнительное изучение эффективности лечения очагов витилиго дермабразией кожи с последующей трансплантацией суспензии некультивированных кератиноцитов и меланоцитов и применением дермабразии в виде моно-терапии [50]. В результате проведенных исследований было установлено, что сроки эпителизации ран в наблюдавшихся участках кожи статистически значимо

не различались. Кроме того, при оценке результатов лечения через 3 месяца после лечения одинаковая степень репигментации наблюдалась в зонах трансплантации и контрольных участках соответственно у 5 и 3 больных. Согласно данным авторов, достигнутый эффект был нестойким: через 12 месяцев после лечения в зонах трансплантации и контрольных участках пигментация отсутствовала соответственно у 100 и 84% пациентов. Основываясь на полученных результатах, авторы исследования пришли к заключению, что репигментация, сформировавшаяся в результате лечения в очагах витилиго, могла быть обусловлена механическим удалением эпидермиса с помощью дермабразии.

### Особенности методов тканевой и клеточной трансплантации

Методы пересадки тканевых трансплантатов имеют некоторые преимущества перед методами трансплантации клеток. Они более просты в выполнении, не требуют применения дорогого оборудования и культивирования клеток. Главный недостаток этих методов — невозможность лечения больших по площади очагов поражения. Кроме того, при использовании этих методов послеоперационный период характеризуется длительными сроками эпителизации участков поврежденной кожи (до 5—10 дней и более), болями, развитием рубцов в донорской зоне и образованием различных косметических недостатков в зоне трансплантации (неравномерной по структуре и цвету кожи в виде «булыжной мостовой» или «узора в горошек» и др.).

Преимуществом методов клеточной трансплантации является возможность получения из небольшого лоскута кожи популяции меланоцитов, достаточной для восстановления пигментации на обширных участках кожи. Кроме того, их применение более удобно при лечении сложных для трансплантации областей тела, таких как пальцы, ушные раковины, пупочное кольцо, половые органы и др.

Недостатками этих методов являются сложность выполнения процедур, необходимость приобретения специального оборудования и организации лаборатории, длительные сроки и неудачи в выделении культур клеток (15—30 дней), высокая стоимость лечения, возможный риск мутагенного и онкогенного действия некоторых ростовых факторов и питательных сред, применяемых для культивирования клеток [44, 56].

Среди методов клеточной трансплантации наиболее эффективным и относительно недорогим является метод трансплантации суспензии некультивированных эпидермальных клеток (меланоцитов и кератиноцитов) [57]. Метод пересадки культивированных меланоцитов применяется главным образом в исследовательских центрах [44]. Он требует оборудования лабо-



ратории для культивирования клеток, однако по эффективности не имеет преимуществ перед пересадкой некультивированных эпидермальных клеток [58]. На сегодняшний день методы клеточной трансплантации окончательно не стандартизованы, отдаленные результаты их применения изучены недостаточно.

### Заключение

Накопленные литературные данные позволяют рассматривать трансплантацию аутологичных меланоцитов в качестве одного из эффективных методов выбора при лечении больших ограниченными формами витилиго, не отвечающими на другие методы терапии.

Лучшие результаты достигаются при использовании менее инвазивных методов трансплантации, однако идеальный косметический эффект наблюдается редко. Следует учитывать, что эффект, качество и длительность существования пигментации, развивающейся при проведении любого из методов трансплантации аутологичных меланоцитов, во многом зависит от квалификации и опыта хирурга.

Основными недостатками методов клеточной трансплантации являются сложность выполнения про-

цедур, необходимость оборудования специальной лаборатории, длительные сроки и неудачи в выделении клеточных культур (15—30 дней), высокая стоимость лечения, возможный риск мутагенного и онкогенного действия ростовых факторов и питательных сред, применяемых для культивирования клеток.

Среди методов клеточной трансплантации наиболее оптимальным в настоящее время по соотношению эффективности/качества и стоимости считается метод пересадки некультивированных эпидермальных клеток (меланоцитов и кератиноцитов), так как он не требует больших финансовых затрат и оборудования лаборатории для культивирования клеток. Этот метод по эффективности превосходит метод трансплантации культивированных меланоцитов, возможно, это связано с несовершенством методов выделения клеточных культур, процесса культивирования и малой изученностью процессов регенерации.

Несмотря на наличие достаточно большого количества накопленных данных, необходимо проведение дальнейших исследований с целью стандартизации методов трансплантации, а также изучения отдаленных результатов и безопасности их применения. ■

### Литература

- Mason C, Dunnill P: A brief definition of regenerative medicine. *Regen. Med.* 2008; 3 (1), 1—5.
- Mason C, Manzotti E: Regen: the industry responsible for cell-based therapies. *Regen. Med.* 2009; 4 (6), 783—785.
- Lewin ML, Peck SM: Pigment studies in skin grafts on experimental animals. *J Invest Dermatol* 1941; 4: 483—503.
- Spencer GA, Tolmach JA: Exchange grafts in vitiligo. *J Invest Dermatol.* 1952; 19 (1): 1—5.
- Behl PN: Treatment of vitiligo with homologous thin Thiersch skin grafts. *Curr Med Pract* 1964; 8: 218—221 (Цит. по Surgical management of vitiligo / ed. by S. Gupta et al. 2007 Blackwell Publishing Ltd Massachusetts, Oxford, Victoria.)
- Falabella R: Epidermal grafting. An original technique and its application in achromic and granulating areas. *Arch Dermatol* 1971; 104 (6): 592—600.
- Falabella R: Repigmentation of segmental vitiligo by autologous minigrafting. *J Am Acad Dermatol* 1983; 9 (4): 514—521.
- Falabella R, Borrero I, Escobar C: [In vitro culture of melanocyte-bearing epidermis and its application in the treatment of vitiligo and the stable leukoderms]. *Med Cu-tan Ibero Lat Am.* 1989; 17 (3): 193—198.
- Gauthier Y, Surlève-Bazeille JE: Autologous grafting with noncultured melanocytes: a simplified method for treatment of depigmented lesions. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26 (2 Pt 1): 191—194.
- Olsson MJ, Juhlin L: Leucoderma treated by transplantation of a basal cell layer enriched suspension. *Br J Dermatol* 1998; 138 (4): 644—648.
- Olsson MJ, Juhlin L: Melanocyte transplantation in vitiligo. *Lancet* 1992 17; 340 (8825): 981.
- Na GY, Seo SK, Choi SK: Single hair grafting for the treatment of vitiligo. *J Am Acad Dermatol.* 1998; 38 (4): 580—584.
- Vanscheidt W, Hunziker T: Repigmentation by outer-root-sheath-derived melanocytes: proof of concept in vitiligo and leucoderma. *Dermatology* 2009; 218 (4): 342—343.
- Thomas A.J, Erickson C.A: The making of a melanocyte: the specification of melanoblasts from the neural crest. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008; 21: 598—610.
- Erickson, C.A., and Reedy, M.V: Neural crest development: the interplay between morphogenesis and cell differentiation. *Curr. Top. Dev. Biol.* 1998; 40, 177—209.
- Dupin E, Le Douarin N.M: Development of melanocyte precursors from the vertebrate neural crest. *Oncogene* 2003; 22: 3016—3023.
- White RM, Zon LI: Melanocytes in development, regeneration, and cancer. *Cell Stem Cell* 2008; 3: 242—252.
- Baynash, A.G., Hosoda, K., Giaid, A., Richardson, J.A., Emoto, N., Hammer, R.E., and Yanagisawa, M: Interaction of endothelin-3 with endothelin-B receptor is essential for development of epidermal melanocytes and enteric neurons. *Cell* 1994; 79: 1277—1285.
- Lee, H.O., Levorse, J.M., and Shin, M.K: The endothelin receptor-B is required for the migration of neural crest-derived melanocyte and enteric neuron precursors. *Dev. Biol.* 2003; 259: 162—175.
- Widlund H.R, Fisher D.E: Microphthalmia-associated transcription factor: a critical regulator of pigment cell development and survival. *Oncogene* 2003; 22: 3035—3041.
- Grichnik J.M: Kit and melanocyte migration. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 945—947.
- Giebel L.B. and Spritz R.A: Mutation of the KIT (mast/stem cell growth factor receptor) protooncogene in human piebaldism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991; 88: 8696—8699.
- Hirobe T: Role of keratinocyte-derived factors involved in regulating the proliferation and differentiation of mammalian epidermal melanocytes. *Pigment Cell Res* 2005; 18: 2—12.
- Real C, Glavieux-Pardanaud C, Le Douarin NM, Dupin E: Clonally cultured differentiated pigment cells can dedifferentiate and generate multipotent progenitors with self-renewing potential. *Dev Biol* 2006; 300: 656—669.
- Kawaguchi Y, Mori N, Nakayama A: Kit(+) melanocytes seem to contribute to melanocyte proliferation after UV exposure as precursor cells. *J Invest Dermatol* 2001; 116: 920—925.
- Grichnik JM, Ali WN, Burch JA, et al: KIT expression reveals a population of precursor melanocytes in human skin. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 967—971.
- Tsukamoto K, Osada A, Kitamura R, Ohkouchi M, Shimada S, Takayama O: Approaches to repigmentation of vitiligo skin: new treatment with ultrasonic abrasion, seed-grafting and psoralen plus ultraviolet A therapy. *Pigment Cell Res.* 2002; 15 (5): 331—334.
- Brysk MM1, Newton RC, Rajaraman S et al: Repigmentation of vitiliginous skin by cultured cells. *Pigment Cell Res.* 1989; 2 (3): 202—7.
- Andreassi L, Pianigiani E. et al: A new model of epidermal culture for the surgical treatment of vitiligo. *Int J Dermatol* 1998; 37 (8): 595—598.

30. Redondo P. et al. Repigmentation of vitiligo by transplantation of autologous melanocyte cells cultured on amniotic membrane *British Journal of Dermatology* 2008; 158: 1134—1173.
31. Sacchidanand S., Thakur P., Purohit V., Sujaya S.N. Follicular unit extraction as a therapeutic option for vitiligo. *J Cutan Aesthetic Surgery* 2013; 6 (4): 229—231.
32. Pianigiani E, Andreassi A, Andreassi L. Autografts and cultured epidermis in the treatment of vitiligo. *Clin Dermatol.* 2005; 23 (4): 424—429.
33. Czajkowski R, Placek W, Drewa T, Kowaliszyn B, Sir J, Weiss W. Autologous cultured melanocytes in vitiligo treatment. *Dermatol Surg* 2007; 33: 1027—36.
34. Czajkowski R. Comparison of melanocytes transplantation methods for the treatment of vitiligo. *Dermatol Surg* 2004; 30 (11): 1400—1405.
35. Mulekar SV. Melanocyte-keratinocyte cell transplantation for stable vitiligo. *Int J Dermatol* 2003; 42: 132—6.
36. van Geel N, Ongenaë K, De Mil M, Haeghen YV, Vervaeck C, Naeyaert JM. Double-blind placebo-controlled study of autologous transplanted epidermal cell suspensions for repigmenting vitiligo. *Arch Dermatol* 2004; 140: 1203—1208.
37. Gauthier Y, Benzekri L. Non-cultured epidermal suspension in vitiligo: from laboratory to clinic. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2012; 78 (1): 59—63.
38. Mulekar S.V. Childhood vitiligo: a long-term study of localized vitiligo treated by noncultured cellular grafting. *Pediatric Dermatology* 2010; 27; 132—136.
39. Goh BK, Chua XM, Chong KL, de Mil M, van Geel NA. Simplified cellular grafting for treatment of vitiligo and piebaldism: the "6-well plate" technique. *Dermatol Surg.* 2010 Feb; 36 (2): 203—7.
40. Falabella R, Barona MI. Update on skin repigmentation therapies in vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2009; 22 (1): 42—65.
41. Olsson M.J., Juhlin L. Transplantation of melanocytes in vitiligo. *British Journal of Dermatology* 1995; 132: 587—591.
42. Chen YF, Yang PY, Hu DN, Kuo FS, Hung CS, Hung CM. Treatment of vitiligo by transplantation of cultured pure melanocyte suspension: analysis of 120 cases. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51: 68—74.
43. Mohanty S., Kumar A., Dhawan J., Sreenivas V., Gupta S. Noncultured extracted hair follicle outer root sheath cell suspension for transplantation in vitiligo. *British Journal of Dermatology* 2011; 164: 1241—1246.
44. Mulekar SV, Isedeh P. Surgical interventions for vitiligo: an evidence-based review. *Br J Dermatol* 2013; 169 Suppl 3: 57—66.
45. Skouge JW, Morison WL, Diwan RV, Rotter S. Autografting and PUVA. A combination therapy for vitiligo. *J Dermatol Surg Oncol.* 1992; 18 (5): 357—360.
46. Hann SK, Im S, Bong HW, Park YK. Treatment of stable vitiligo with autologous epidermal grafting and PUVA. *J Am Acad Dermatol.* 1995; 32 (6): 943—948.
47. Lahiri K, Malakar S, Sarma N, Banerjee U. Repigmentation of vitiligo with punch grafting and narrow-band UV-B (311 nm) — a prospective study. *Int J Dermatol.* 2006; 45 (6): 649—655.
48. Sheth VM, Currimbhoy SD, Feetham HJ et al. Efficacy of narrowband ultraviolet B versus excimer radiation in repigmenting vitiligo after minigrafting on the distal arms. *J Am Acad Dermatol.* 2012; 67 (2): 318—320.
49. Wassef C, Lombardi A, Khokher S, Rao BK. Vitiligo surgical, laser, and alternative therapies: a review and case series. *J Drugs Dermatol* 2013; 12 (6): 685—691.
50. Back C, Dearman B, Li A, Neild T, Greenwood JE. Noncultured keratinocyte/melanocyte cosuspension: effect on reepithelialization and repigmentation — a randomized, placebo-controlled study. *J Burn Care Res* 2009; 30 (3): 408—416.
51. Felsten LM, Alikhan A, Petronic-Rosic V. Vitiligo: a comprehensive overview Part II: treatment options and approach to treatment. *J Am Acad Dermatol.* 2011; 65 (3): 493—514.
52. Krasagakis K, Garbe C, Krüger-Krasagakis S, Orfanos CE. 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate not only modulates proliferation rates, but also alters antigen expression and LAK-cell susceptibility of normal human melanocytes *in vitro*. *J Invest Dermatol.* 1993; 100 (5): 653—659.
53. van Geel N, Ongenaë K, Naeyaert JM. Surgical techniques for vitiligo: A review. *Dermatology* 2001; 202 (2): 162—166.
54. Budania A, Parsad D, Kanwar AJ, Dogra S. Comparison between autologous non-cultured epidermal cell suspension and suction blister epidermal grafting in stable vitiligo: a randomized study. *Br J Dermatol* 2012; 167 (6): 1295—1301.
55. Singh C, Parsad D, Kanwar AJ, Dogra S, Kumar R. Comparison between autologous noncultured extracted hair follicle outer root sheath cell suspension and autologous noncultured epidermal cell suspension in the treatment of stable vitiligo: a randomized study. *Br J Dermatol* 2013; 169 (2): 287—293.
56. Majid I. Grafting in Vitiligo: How to Get Better Results and How to Avoid Complications. *J Cutan Aesthet Surg* 2013; 6 (2): 83—89.
57. Mysore V, Salim T. Cellular grafts in management of leucoderma. *Indian J Dermatol* 2009; 54 (2): 142—149.

об авторах:

А.А. Кубанова — академик РАН, д.м.н., профессор, директор ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

В.А. Волнухин — д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

Д.В. Прошутинская — д.м.н, ведущий научный сотрудник, заведующая отделением детской дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

М.Б. Жилова — к.м.н., заведующий отделением физиотерапией ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

В.В. Чикин — к.м.н., старший научный сотрудник отдела дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

А.Э. Карамова — к.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

Р.Р. Сайтбурханов — врач-дерматовенеролог клинико-диагностического центра ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье