

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФГАОУ ВО ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. М. СЕЧЕНОВА
МИНЗДРАВА РОССИИ
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)**

На правах рукописи

Мельникова
Юлия Геннадьевна

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЯ БОГАТОЙ ТРОМБОЦИТАМИ АУТОПЛАЗМЫ В
ЛЕЧЕНИИ ОГРАНИЧЕННЫХ ФОРМ ВИТИЛИГО**

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

14.01.10 - кожные и венерические болезни

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор К.М. Ломоносов

Москва 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ И ЛЕЧЕНИИ ВИТИЛИГО (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	10
1.1 Эпидемиология и социальная значимость витилиго.....	10
1.2 Современные представления об этиологии и патогенезе витилиго.....	12
1.3 Иммунологические аспекты витилиго. Роль цитокинов в патогенезе заболевания.....	16
1.4 Классификация, клиника и диагностика витилиго.....	21
1.5 Современные подходы к лечению витилиго.....	24
1.5.1 Медикаментозная терапия витилиго.....	25
1.5.2 Фототерапия.....	30
1.5.3 Инвазивные методы лечения витилиго.....	33
1.6 Обогащенная тромбоцитами плазма и опыт ее применения в различных областях медицины.....	39
1.6.1 Свойства обогащенной тромбоцитами плазмы.....	39
1.6.2 Опыт применения обогащенной тромбоцитами плазмы при различных патологиях.....	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	49
2.1. Организация (дизайн) исследования.....	49
2.2 Методы лечения витилиго.....	52
2.3 Методы исследования.....	56
2.3.1 Определение уровней цитокинов и фактора роста эндотелия сосудов: обоснование и методы оценки.....	57
2.3.2 Оценка содержания меланина в коже.....	60

2.3.3 Оценка качества жизни пациентов.....	12
2.4 Статистический анализ полученных данных.....	63
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	64
3.1 Клиническая характеристика больных витилиго.....	64
3.2. Сравнительная оценка эффективности различных методов лечения витилиго.....	69
3.3 Динамика уровней цитокинов у больных витилиго при использовании различных подходов к лечению.....	71
3.4 Динамика сосудистого эндотелиального фактора роста у больных витилиго при использовании различных подходов к лечению.....	74
3.5 Изменения уровня меланина при использовании различных подходов к лечению витилиго.....	75
3.6 Качество жизни больных витилиго при использовании различных подходов к лечению.....	77
КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ.....	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	82
ВЫВОДЫ	94
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	99

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Витилиго – это приобретенное заболевание кожи неизвестной этиологии, которое характеризуется исчезновением пигментации на отдельных участках кожного покрова вследствие утраты меланоцитов [Ломоносов К.М., Герейханова Л.Г., 2016; Олисова О.Ю. и др., 2013; Edwards С., 2019; Kyriakis К.Р. et al., 2009], которое встречается у 0,5-1% мировой популяции [Cesar Silva de Castro С., Miot Н.А., 2018; Taieb А. et al., 2007]. Витилиго одинаково часто развивается у мужчин и женщин, однако женщины значительно чаще обращаются за помощью по поводу этого заболевания [Onunu А.Н., Kubeyinje Е.Р., 2003].

Витилиго существенно влияет на психологическое состояние пациента и самооценку, особенно при поражении кожи лица и рук. Результаты исследований показывают, что по степени влияния на эмоциональное состояние пациентов витилиго сравнимо с экземой и псориазом и не зависит от расовых особенностей [Kim D.Y. et al., 2009; Linthorst Нoman M.W. et al., 2009]. Пациенты с витилиго подвержены психическим заболеваниям, таким, как расстройства адаптации, нарушения сна, депрессия, тревожное расстройство и дистимия [Mattoo S.K. et al., 2002; Vallerand I.A. et al., 2019].

По мнению отечественных и зарубежных исследователей, витилиго развивается вследствие комплексного действия на организм эндо- и экзогенных факторов, в частности нейроэндокринных, иммунных нарушений, изменений интенсивности окислительно-восстановительных реакций и микроциркуляции [Дворянкова Е.В., Корсунская И.М., 2018; Пинсон И.Я. и др., 2016; ; Esmat S. et al., 2018; Kundu R.V. et al., 2018; Yang Y. et al., 2017].

При витилиго требуется длительное лечение, основной целью которого является остановка прогрессирования заболевания и регресс его

клинических проявлений [Тлиш М.М. и др., 2018; Abdelghani R. et al., 2018; Shih S., 2019]. Многофакторная концепция патогенеза заболевания и нарушения, которые обнаруживаются при клинико-лабораторном обследовании пациентов, подтверждают необходимость использования в лечении витилиго широкого спектра мероприятий [Васильченко Т.С. и др., 2019; Кубанова А.А. и др., 2014; Ломоносов К.М. и др., 2017; Олисова О.Ю. и др., 2007; Kotb El-Sayed M.I. et al., 2018]. При этом исход заболевания во многом определяется адекватным выбором методов лечения с учетом индивидуального подхода. В свою очередь выбор метода определяется размерами и локализацией депигментированных очагов, а также степенью активности патологического процесса, соматическим статусом пациента и его предпочтениями [Олисова О.Ю. и др., 2017; Шарафутдинова Л.А., 2016; Speeskaert R. et al., 2017].

Выделяют фармакологические, хирургические и физические способы лечения витилиго, в ряде случаев методы из разных групп могут применяться совместно [Кривоконева А.И., 2018; Sardana K., Verma G., 2018]. В последние годы в лечении данной категории больных при отсутствии ответа на лечение все шире применяются различные методы клеточной трансплантации.

Степень разработанности темы.

К настоящему времени разработаны и апробированы новые методы лечения витилиго [Герейханова Л.Г., Ломоносов К.М., 2017; Кривоконева А.И., 2018; Wolkerstorfer A., 2019], при этом в качестве одного из перспективных подходов рассматривается терапия обогащенной тромбоцитами плазмой (ОТП) [Потапнев М.П. и др., 2018; Толстов Д.А., Богдан В.Г., 2014; Штутин А.А. и др., 2016; Yu W. et al., 2011]. В различных областях медицины все шире используются факторы роста с целью стимуляции и модулирования процессов репарации различных поврежденных и травмированных тканей. В ходе получения ОТП цельную аутокровь центрифугируют для создания концентрации тромбоцитов, превышающей концентрацию в цельной крови [Xie X. et al., 2014; Zhang M.

et al., 2018; Sampson S. et al., 2010]. Известно, что альфа-гранулы тромбоцитов содержат целый ряд медиаторов - факторов роста, в частности, инсулиноподобный фактор роста-1, основной фактор роста фибробластов, тромбоцитарный фактор роста, эпидермальный фактор роста, сосудистый эндотелиальный фактор роста и трансформирующий фактор роста-бета, которые играют важнейшую роль в ослаблении воспалительной реакции и элиминации некротизированных клеток [Kadry M. et al., 2018; Mlynarek R.A. et al., 2016; Woodell-May J.E. et al., 2011].

Материалы опубликованных исследований указывают на высокий потенциал данного метода в лечении ряда кожных заболеваний [Олисова О.Ю., Авагян Д.В., 2018; Parambath N. et al., 2019], однако сообщения о его применении при витилиго в доступной литературе единичны и противоречивы, что обусловило актуальность нашей работы.

Цель работы: разработать метод применения обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении ограниченных форм витилиго с учетом цитокинового статуса.

Задачи исследования:

1. Изучить клиническую эффективность и безопасность применения обогащенной тромбоцитами плазмы в комплексе со стандартными методами лечения витилиго.
2. Оценить уровень меланина в очагах поражения пациентов с витилиго при использовании предложенного подхода к лечению.
3. Исследовать динамику показателей цитокинового профиля и сосудистых факторов на фоне применения стандартных методов и обогащенной тромбоцитами плазмы у больных витилиго.
4. Изучить влияние предложенного подхода к лечению на качество жизни пациентов на основе оценки динамики показателя дерматологического индекса качества жизни.

5. Определить показания и противопоказания, обосновать режим применения обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении витилиго.

Научная новизна исследования

В рамках данной работы впервые проведена оценка клинической эффективности и безопасности применения обогащенной тромбоцитами плазмы в комплексном лечении витилиго.

Впервые продемонстрирована эффективность инъекций обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении ограниченных форм витилиго в комплексе с ультрафиолетовым облучением по сравнению с отдельным использованием этих факторов.

Впервые установлено влияние использованного подхода на клиническое течение заболевания, а также лабораторные показатели больных витилиго: продемонстрировано повышение уровня меланина в очагах поражения, нормализация концентраций провоспалительных цитокинов. Впервые охарактеризованы изменения эндотелиального сосудистого фактора на фоне применения обогащенной тромбоцитами плазмы у больных витилиго.

Показано влияние использованного метода лечения на качество жизни пациентов, продемонстрировано повышение уровня дерматологического индекса качества жизни после комплексного лечения с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты проведенного исследования расширяют представления о патогенезе витилиго. Данные, полученные в ходе выполнения работы, подтверждают патогенетическую обоснованность применения обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении этого заболевания.

Показано, что аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма является хорошо переносимой и может быть использована в качестве дополнительного компонента в комплексе лечения ограниченного витилиго.

Полученные в работе данные позволили выработать показания и противопоказания к использованию обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении витилиго.

На основании результатов работы предложен алгоритм и режимы применения метода внутрикожного введения обогащенной тромбоцитами плазмы больным ограниченными формами витилиго.

Внедрение в практику

Результаты, полученные при выполнении исследования, внедрены в деятельность специалистов клиники кожных и венерических болезней имени В.А.Рахманова Университетской клинической больницы № 2 Первого МГМУ им. И.М.Сеченова, а также используются в учебном процессе на кафедре кожных и венерических болезней Первого Московского Государственного Университета имени И.М.Сеченова при чтении лекций и проведении семинарских занятий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы в комплексе с ультрафиолетовым облучением является клинически эффективным методом лечения ограниченного витилиго.

1. Использование обогащенной тромбоцитами плазмы в комплексной терапии витилиго является безопасным методом, который характеризуется хорошей переносимостью, отсутствием побочных эффектов и не несет риска инфицирования.

1. Данный метод лечения витилиго является патогенетически обоснованным, что подтверждается повышением уровня меланина в очагах заболевания, нормализацией баланса цитокинов и сосудистого эндотелиального фактора роста при его применении.

1. Включение обогащенной тромбоцитами плазмы в комплекс лечения больных витилиго характеризуется длительным эффектом и повышением качества жизни пациентов, сохраняющимся в течение года после проведенного лечения.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на научно-практической конференции кафедры и клиники кожных и венерических болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М.Сеченова (Москва, 2017), на XVIII Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (Москва, 2018).

Апробация диссертационной работы состоялась на научно-практической конференции кафедры кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова лечебного факультета ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М.Сеченова МЗ России (Сеченовский университет) в октябре 2018 г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 4 печатных работы, из них 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования РФ для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Личный вклад автора в получении результатов

Автор самостоятельно разработал дизайн и программу исследования, принимал участие в обследовании и лечении 68 больных витилиго, включенных в исследование. Автор освоил методы, использованные в работе, провел статистическую обработку и анализ полученных данных, диссертантом лично были сформулированы выводы, практические рекомендации и положения, выносимые на защиту.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.10 - кожные и венерические болезни.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 3 таблицами и 21 рисунком. Указатель использованной литературы содержит 333 библиографических источника, в том числе 66 отечественных и 267 иностранных публикаций.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ И ЛЕЧЕНИИ ВИТИЛИГО (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Эпидемиология и социальная значимость витилиго

Витилиго – это приобретенное заболевание кожи неизвестной этиологии, которое характеризуется исчезновением пигментации на отдельных участках кожного покрова вследствие утраты меланоцитов [Kyriakis K.P. et al., 2009; Taieb A. et al., 2007].

Витилиго встречается у 0,5-1% мировой популяции населения [Taieb A. et al., 2007]. Согласно результатам крупных эпидемиологических исследований, распространенность заболевания в Китае и Индии составляет соответственно 0,093% и 0,38%, в европейских странах ниже, например, в Дании - 0,005% [Das S.K. et al., 1985; Lu T. et al., 2007]. В отдельных областях Индии распространенность витилиго достигает 8,8% [Dwivedi M. et al., 2008].

Средний возраст начала витилиго значительно меньше у пациентов с семейным анамнезом витилиго – на долю таких больных, по различным данным, приходится от 7,7% до 50% от общего количества пациентов с витилиго [Akay B.N. et al., 2010; Zhang Z. et al., 2009]. Витилиго достоверно чаще развивается у женщин моложе 30 лет [Handa S., Dogra S., 2003], пик заболеваемости у женщин приходится на первое десятилетие жизни, у мужчин – на пятое десятилетие [Handa S., Dogra S., 2003; Kyriakis K.P. et al., 2009].

Витилиго существенно влияет на психологическое состояние пациента и самооценку, особенно при поражении кожи лица и рук, такие больные подвержены психическим заболеваниям, у них отмечаются различные нарушения психики [Mattoo S.K. et al., 2002].

1.2 Современные представления об этиологии и патогенезе витилиго

Витилиго является многофакторным заболеванием, которое развивается как следствие совокупности генетических, метаболических и иммунологических нарушений. Нарушение процессов регенерации и пролиферации меланоцитов свидетельствует о наличии дефектов в этих клетках [Dell'anna M.L., Picardo M., 2006].

До сих пор неизвестно, какие события провоцируют начало витилиго. По мнению ряда исследователей, генетические факторы и дефекты антиоксидантной системы сами по себе не являются причиной этого заболевания, и для манифестации витилиго необходимо воздействие внешних факторов [Harris J.E., 2017]. В фазе прогрессирования заболевания определенную роль играют скрытая воспалительная реакция и аутоиммунные процессы [Bertolotti A. et al., 2014; Itoi S. et al., 2014; Richmond J.M. et al., 2013].

Считают, что важнейшую роль в развитии витилиго играет окислительный стресс. По данным литературы, меланоциты пациентов с витилиго обладают врожденными дефектами, которые снижают их устойчивость к активным формам кислорода (АФК) и другим повреждающим факторам [Лысенко В.И., Корсунская И.М., 2012; Harris J.E., 2016].

Клетки эпидермиса, в том числе меланоциты, регулярно подвергаются действию стрессовых факторов, среди которых – ультрафиолетовое (УФ) излучение и различные химические вещества, которые стимулируют образование АФК. Установлено, что в коже пациентов с витилиго повышены концентрации пероксида водорода, малонового диальдегида и диеновых конъюгат (последние два показателя свидетельствуют о повышенной активности перекисного окисления липидов), снижена активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) – двух важнейших ферментов, защищающих

клетки от окислительного стресса [Батпенова Г.Р. и др., 2014; Герейханова Л.Г. и др., 2016; Исмаилов Р.Г., 2011; 2014; Ломоносов К.М., 2009; Лысенко В.И., Корсунская И.М., 2012; Boniface K. et al., 2017; Gibbons N.C. et al., 2006; Xie H. et al., 2016; Yang Y. et al., 2017].

В физиологических условиях меланоциты обладают полным набором антиоксидантных ферментов (ферменты фазы II биотрансформации, такие как гемоксигеназа-1 (HO-1), супероксиддисмутаза и каталаза), чтобы реагировать на сверхэкспрессию АФК [Kim J.Y. et al., 2014]. Синтез сквенджеров АФК (т.е. веществ, инактивирующих АФК) контролируется фактором транскрипции Nrf2 (nuclear E2-related factor 2), который связывается с антиоксидант-респонсивными элементами (antioxidant responsive elements, AREs), находящимися в промоторах определенных генов. Было показано, что в кератиноцитах больных витилиго в пределах участков поражения кожи выявляется сниженная антиоксидантная активность.

PAR-2 индуцирует поглощение меланина кератиноцитами и экспрессию антиоксидантных ферментов (например, хинон-оксидазы, NQO-1): оба механизма являются фундаментальными для защиты клеток от окислительного стресса, вызванного солнечным светом или другими триггерами [Kim J.Y. et al., 2014]. Нарушение взаимодействия PAR-2/Nrf2 связано с развитием витилиго: экспрессия PAR-2 снижается, что приводит к нарушению антиоксидантного ответа [Jian Z. et al., 2011; 2014]. Таким образом, снижение активности антиоксидантных ферментов и увеличение уровней АФК, наблюдаемых при витилиго, могут быть связаны с нарушением сигнального пути Nrf2 как в меланоцитах, так и в кератиноцитах.

Изучение анамнеза больных витилиго показало, что это заболевание наследуется. При общей распространенности витилиго в мире на уровне 1% риск его развития у людей с родными братьями и сестрами, страдающими этим заболеванием, составляет 6%, для однояйцевых близнецов - 23% [Alkhateeb A. et al., 2003; Taieb A., Picardo M., 2009].

Примечательно, что несегментарное витилиго ассоциировано с повышенным риском развития ряда аутоиммунных заболеваний, в числе которых гнездовая алопеция, псориаз, сахарный диабет 1-го типа, ревматоидный артрит, аутоиммунный тиреоидит и болезнь Аддисона [Gill L. et al., 2016; van Geel N. et al., 2014; Vrijman C. et al., 2012]. При этом данные многолетних наблюдений были впоследствии подтверждены результатами крупных геномных исследований, в которых были выявлены общие для больных витилиго мутации генов, кодирующих компоненты врожденного (NLRP1, IFIH1, CASP7, C1QTNF6, and TRIF) и приобретенного иммунитета (FOXP3, BACH2, CD80, CCR6, PTPN22, рецептор интерлейкина 2 (ИЛ)-2R, α -GZMB, главные комплексы гистосовместимости I и II классов) [Каюмова Л.Н. и др., 2013; Симонова Н.И. и др., 2012; Тальникова Е.Е., 2017; Усовецкий И.А. и др., 2010; Shen C. et al., 2016; Spritz R.A., Andersen G.H., 2017].

Некоторые генетические маркеры, ассоциированные с витилиго, затрагивают те или иные гены, контролирующие деятельность врожденного иммунитета [Jin Y. et al., 2012; Shen C. et al., 2016; Spritz R.A., 2012]. В результате в ответ на повреждение меланоцитов происходит активация натуральных киллеров и усиливается экспрессия провоспалительных белков, в частности, белков теплового шока (HSP), а также провоспалительных цитокинов, основными из которых являются ИЛ-1 бета, ИЛ-6 и ИЛ-8 [Бабешко О.А. и др., 2012; Даниелян Э.Е. и др., 2007; Шарафутдинова Л.А., Ломоносов К.М., 2015; Levandowski C.B. et al., 2013; Mosenson J.A. et al., 2013; Toosi S. et al., 2012; van den Boorn J.G. et al., 2016; Xie H. et al., 2016; Yu R. et al., 2012].

Инфламмосомы представляют собой белковые комплексы, образуемые макрофагами и нейтрофилами, играющие существенную роль в развитии воспалительной реакции [Пирожков С.В., Литвицкий П.Ф., 2018]. Активация инфламмосом приводит к секреции ИЛ-1 β и ИЛ-18 этими клетками. Согласно данным литературы, повышенная активность белка

NLRP1, ключевого компонента инфламмосом, наблюдается в кератиноцитах, окружающих очаги витилиго. Были выявлены гаплотипы NLRP1, которые ассоциированы с повышенным риском развития витилиго [Levandowski C.B. et al., 2013].

Кератиноциты и меланоциты являются основными популяциями клеток эпидермиса и формируют так называемые структурно-функциональные единицы эпидермиса – эпидермальные пролиферативные единицы (ЭПЕ), которые отвечают за пигментацию кожи [Lee A.Y., 2012; Lee H.S. et al., 2015; Marie J. et al., 2014]. При этом один меланоцит может взаимодействовать с несколькими кератиноцитами, передавая им синтезированный пигмент. Меланоциты являются единственными клетками, способными синтезировать меланосомы - специфические внутриклеточные органеллы, содержащие меланин и специфические ферменты, такие как тирозиназа и литические ферменты - кислотозависимые гидролазы, которые необходимы для созревания меланина и для связи между меланоцитами и кератиноцитами [Cichorek M. et al., 2013; Ebanks J.P. et al., 2013].

Механизм переноса меланосом от меланоцитов в кератиноциты ещё недостаточно изучен. Предполагают возможность его реализации через синапсоподобную структуру между меланоцитами и кератиноцитами. Кератиноциты экспрессируют активируемый протеазами рецептор 2-го типа (protease activated receptor 2, PAR2), который участвует в переносе меланосом, опосредуя их фагоцитоз этой клеточной популяцией [Van Den Bossche K. et al., 2006]. Перенесенный в кератиноцит меланин образует кэп-структуру, которая окружает ядра клеток и защищает генетический материал от УФ-излучения. Одним из видимых эффектов этого физиологического процесса является гиперпигментация кожи в ответ на интенсивное воздействие солнечного света. В соответствии с этим механизмом очевидны этнические различия в экспрессии PAR2 – синтез его, действительно, более выражен в темной коже, чем в светлой, что подчеркивает фундаментальную

роль данного рецептора в регуляции пигментации кожи [Babiarz-Magee L. et al., 2004].

Таким образом, межклеточная сигнализация между кератиноцитами и меланоцитами регулируется различными факторами роста и цитокинами, а нарушение взаимодействия между этими двумя популяциями клеток может вызывать дегенеративные явления в коже и развитие иммунных/аутоиммунных реакций, активируемых воспалительными агентами [Lotti T. et al., 2014; Nasti T.H., Timares L., 2012]. Подобные нарушения, вероятно, лежат в основе патогенеза витилиго.

1.3 Иммунологические аспекты витилиго. Роль цитокинов и факторов роста в патогенезе заболевания

В настоящее время общепризнанной является роль иммунологических нарушений в патогенезе витилиго. Установлено, что клеточно-опосредованный иммунный ответ играет роль как в апоптозе кератиноцитов, так и в апоптозе меланоцитов. CD8⁺ Т-клеточная инфильтрация выступает в качестве одного из звеньев патогенеза витилиго. CD8⁺ (цитотоксические, Т-киллеры) Т-лимфоциты ответственны за апоптоз меланоцитов и, проникая в область витилиго, приводят к полной гибели меланоцитов. Кроме того, показано, что CD8⁺ Т-лимфоциты способны вызывать апоптоз кератиноцитов в неповрежденной коже, усиливая нарушения взаимодействий между кератиноцитами и меланоцитами [van den Boorn J.G. et al., 2009; Wu J. et al., 2013].

Вышеописанные эффекты, вероятно, опосредованы цитотоксическими Т-лимфоцитами, которые продуцируют провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α) и интерферон гамма (ИФН- γ). Эти цитокины усиливают процесса апоптоза в кератиноцитах, что

подчеркивает роль воспаления в развитии и распространении витилиго [van den Boorn J.G. et al., 2009].

Конечным звеном патогенеза витилиго является разрушение меланоцитов цитотоксическими (CD8⁺) Т-лимфоцитами [van den Boorn J.G. et al., 2009]. Несмотря на то, что аутореактивные CD8⁺ лимфоциты выявляются у здоровых людей, они, как правило, анергичны. Повышенная активность цитотоксических лимфоцитов у пациентов с витилиго обусловлена уменьшением количества регуляторных Т-лимфоцитов, при этом показано, что степень снижения количества этих лимфоцитов коррелирует с активностью заболевания [Dwivedi M. et al., 2013].

Секретируемые цитокины выступают в роли сигнальных молекул, позволяющих обнаружить поврежденные меланоциты, что особенно важно, поскольку эпидермис лишен кровеносных сосудов [Rork J.F. et al., 2016]. Цитотоксические лимфоциты секретируют интерферон- γ , ФНО и ИЛ-17 при взаимодействии с пептидами, регулирующими дифференцировку меланоцитов [van den Boorn J.G. et al., 2009]. У больных витилиго наблюдаются повышенные концентрации интерлейкинов -1 β , 2, 17, 22, 23 и 33 [Elela M.A. et al., 2013; Tembhre M.K. et al., 2013]. В некоторых исследованиях продемонстрировано, что в коже пациентов с витилиго отмечается повышенная концентрация ИЛ-17, которая ассоциируется с высокой активностью инфламмосом [Zhou L. et al., 2015].

Важную роль в патогенезе витилиго играют и хемокины - малые белковые молекулы, выступающие в роли хемоаттрактантов и управляющие миграцией Т-лимфоцитов и других клеток иммунной системы. Показано, что в коже и крови животных и пациентов с витилиго значительно повышены концентрации интерферона-гамма и интерферон-зависимых хемокинов, в том числе хемокинов семейства CXС (CXCL 9 и 10) [Rashighi M. et al., 2014; Regazzetti C. et al., 2015; Wang X.X. et al., 2016].

В доклинических исследованиях доказано, что интерферон-гамма и CXCL10 являются ключевыми факторами прогрессирования витилиго [Harris

J.E. et al., 2012; Rashighi M. et al., 2014]. Было показано, что интерферон-гамма вызывает депигментацию не только опосредованно, но и напрямую за счет подавления меланогенеза и запуска апоптоза меланоцитов [Yang L. et al., 2015]. Wang X.X. et al. (2016) продемонстрировали, что концентрация CXCL10 у пациентов с витилиго напрямую коррелирует с активностью заболевания и значительно снижается при эффективном лечении.

В целом для витилиго характерны нарушения иммунологического баланса, причем главным образом это выражается дисбалансом продукции цитокинов, которые секретируются Т-хелперами 1 (Th1) и Т-хелперами 17 (Th17) (ФНО- α , ИФН- γ , интерлейкинов (ИЛ)-1, 2, 6, 8, 17) и цитокинами, которые секретируются Т-регуляторными клетками (Treg) и Т-хелперами 2 (Th2) (ИЛ-4). Гиперпродукция цитокинов Th1 связана с аутоиммунными заболеваниями, а витилиго, как было отмечено выше, по патогенезу соответствует аутоиммунной патологии и характеризуется наличием воспалительного компонента [Roychoudhuri R. et al., 2014; Yu H.S. et al., 1997]. Экспрессия генов семейства ИЛ-10 и, следовательно, экспрессия мРНК генов этого семейства является еще одним важным фактором развития витилиго, особенно на ранних стадиях. В частности, высокие уровни ИЛ-22 обнаруживаются в популяции Th17 мононуклеарных клеток периферической крови этих больных, усиливая аутоиммунный ответ при развитии витилиго и способствуя нарушению взаимодействия между кератиноцитами и меланоцитами [Reimann E. et al., 2012]. Схематически роль цитокинов в этих взаимодействиях представлена на рисунке 1.1.

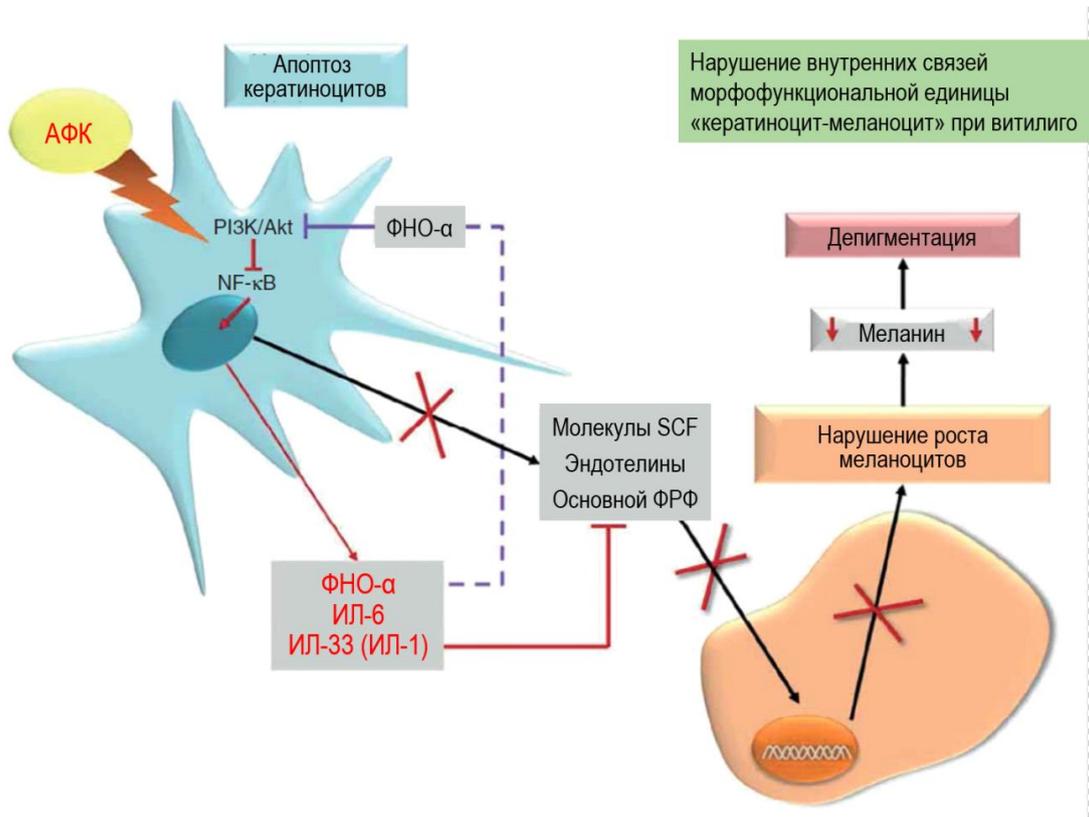


Рисунок 1.1 Роль цитокинов в нарушениях взаимодействий между кератиноцитами и меланоцитами при витилиго

Установлено, что в развитии витилиго играют и нарушения баланса нейропептидов. Дофамин оказывает токсическое действие на меланоциты, что приводит к хронической активации протеинкиназы В (Akt), вызванной окислительным стрессом, с последующим апоптозом клеток [Choi H.R. et al., 2010; Reimann E. et al., 2012]. Усиление процессов перекисного окисления липидов в области депигментированного пятна инактивирует ацетилхолинэстеразу с последующим увеличением уровня активного ацетилхолина, что приводит к разрушению и депигментации меланоцитов. Ацетилхолин оказывает ингибирующее действие на фермент дофамин- β -гидроксилазу, и по этой причине дофаминовый цитотоксический эффект усиливается, что способствует созданию прооксидативной положительной обратной связи. Все вышеперечисленное вызывает гибель меланоцитов [Shajil E.M. et al., 2006].

В коже кортиколиберин усиливает секрецию проопиомеланокортина (ПОМК) и его производных пептидов, таких как меланинконцентрирующий гормон (МСН). Рецептор меланинконцентрирующего гормона-1 (MCHR1) экспрессируется меланоцитами, поэтому в случае гибели меланоцитов (что происходит при витилиго) нарушается взаимодействие МСН с собственным рецептором, в связи с чем происходит нарушение процессов пигментации кожи. Другой пептид, являющийся производным ПОМК, препроноцицептин, гиперэкспрессируется в области депигментированного пятна, изменяя иммуномодуляцию и вызывая воспалительные явления в коже [Reimann E. et al., 2010].

Эти наблюдения подчеркивают ключевую роль иммунных гомеостатических механизмов при возникновении витилиго: в области поражения наблюдаются признаки постоянного хронического воспаления с измененной секрецией цитокинов. Также отмечается измененная аутоиммунная реактивность; а чрезмерный окислительный стресс нарушает функционирование ЭПЕ за счет нарушений связи между кератиноцитами и меланоцитами и индуцирует цитотоксичность. В частности, нарушение активности основного фактора роста фибробластов (basic fibroblast growth factor; TGF- β) является причиной депигментации кожи.

Таким образом, нарушения сложных межклеточных взаимодействий при витилиго между кератиноцитами и меланоцитами, вызванное воспалительным и аутоиммунным механизмами, приводит к потере функции ЭПЕ.

К сигнальным молекулам, синтезируемым кератиноцитами, относятся: эндотелин (endothelin, ET), факторы стволовых клеток (stem cell factors, SCFs) и факторы роста (TGF- β). Эти молекулы участвуют в росте меланоцитов, их дифференцировке и синтезе меланина [Hirobe T. et al., 2013; Lee A.Y. et al., 2005; Takata T. et al., 2013]. Сигнальный путь начинается со взаимодействия ET и SCF со своими специфическими рецепторами – эндотелиновым рецептором типа В (endothelin receptor type B, EDNRB) и с

рецептором тирозинкиназ (receptor tyrosine kinase, c-Kit), соответственно [Hyter S. et al., 2013; Kitamura R. et al., 2004]. При этом образуется ряд промежуточных продуктов, в итоге этот сигнальный путь приводит к ERK1/2-зависимому (киназы, активируемые внеклеточным сигналом; extracellular signal-regulated kinases 1/2) переносу рибосомальной s6 киназы (RSK) в ядро [Cheong K.A. et al., 2014; Terazawa S. et al., 2015]. RSK с помощью транскрипционного фактора MIT-F (microphthalmia-associated transcription factor) активирует ядерный транскрипционный фактор CREB (cAMP response element-binding protein), который активирует специфические гены, кодирующие определенные тирозиназы (TYR; TYRP1/2) [Wan P. et al., 2011]. Уровни мРНК MIT-F (а также PI3K) снижаются в области депигментированных пятен, что указывает на ключевую роль данных сигнальных путей в развитии витилиго [Kingo K. et al., 2008].

С другой стороны, опосредуемый TGF- β сигнальный путь активирует рецептор тирозиновых протеинкиназ 2 типа (FGF2R), что приводит к активации MAPK (mitogen-activated protein kinase) - каскада и последующей активации ERK1/2; с дальнейшим переносом STAT3 в ядро и активацией ядерного транскрипционного фактора PAX3, который, подобно CREB, активирует специфические гены, кодирующие тирозиназы [Dong L. et al., 2012].

Фактор роста b-FGF синтезируется кератиноцитами под влиянием транскрипционного фактора Foxn1, являющегося ключевым регулятором роста и дифференцировки кератиноцитов и хемотаксическим фактором рекрутинга меланоцитов. Через b-FGF Foxn1 индуцирует пигментацию кожи, усиливая транспорт меланосом вместе с вышеупомянутыми ET/ SCF и другими медиаторами, такими как β -эндорфин и адренкортикотропный гормон [Hirobe T., 2005]. С помощью TGF- β осуществляется также паракринное взаимодействие между кератиноцитами и меланоцитами. TGF- β также участвует в окислительно-восстановительных процессах детоксикации за счет снижения уровня окислительного стресса, активируя

путь PI3K/Akt и последующее ингибирование переноса NF-kB в ядро [Lee A.Y., 2012; Wang Z. et al., 2012].

- **1.4.Классификация, клиника и диагностика витилиго**

В настоящее время выделяют 2 основные клинические формы витилиго. Первая - сегментарное витилиго (СВ), при котором область поражения соответствует зоне иннервации одного или нескольких спинномозговых сегментов, при этом отсутствует тенденция к прогрессированию [Ghia D., Mulekar S., 2015; Kim Y.C. et al., 2008]. Вторая форма - несегментарное витилиго (НСВ), для которого характерно симметричное двустороннее расположение пятен, выходящих за пределы одного сегмента, склонных к росту и слиянию, постепенно распространяющихся по телу. Последнюю форму разделяют на подтипы: фокальный, генерализованный (*Vitiligo vulgaris*), акрофациальный, универсальный и витилиго слизистых оболочек. Сочетание сегментарного и несегментарного типов рассматривают в качестве смешанного типа заболевания [Юсупова Л.А., Юнусова Е.И., 2014; Gawkrödger D.J. et al., 2008].

В основу классификации положен изначально принцип выделения индивидуального клинического течения, в то же время предполагают, что эти клинические формы различаются также механизмами развития, приводящими к аналогичному исходу, но характеризующимися различными лабораторными показателями. При этом до настоящего времени не выработано единого мнения о лабораторно-инструментальных критериях разных форм заболевания, хотя их значимость для выработки тактики лечения витилиго является общепризнанной [Lotti T., D'Erme A.M., 2014; Speeskaert R., van Geel N., 2017].

Несегментарное витилиго является наиболее распространенной формой заболевания (85-90 % случаев), для которой характерно билатеральное развитие депигментации, чаще симметричной. Кожные

изменения в редких случаях сопровождаются зудом, однако чаще никаких дополнительных симптомов не наблюдается [Speeckaert R., van Geel N., 2017]. Сегментарное витилиго встречается реже, например, у детей частота его может достигать 30% [Bellet J.S., Prose N.S., 2005; Song M.S. et al., 1994].

Первые очаги могут быть отмечены в любой части тела, однако наиболее часто возникают на пальцах рук, кистях и лице. Участки депигментации обладают признаками, позволяющими отличить стабильное заболевание от прогрессирующего. К признакам продолжающейся депигментации относятся нечеткие границы очагов или появление новых точечных депигментированных участков. Стабильные очаги характеризуются четкой границей [Speeckaert R., van Geel N., 2017].

Акрофациальное витилиго представляет собой форму заболевания, при которой очаги депигментации расположены исключительно на лице, коже головы, кистях и стопах. Впоследствии заболевание может распространиться на другие участки кожи, повторяя таким образом картину генерализованного витилиго [Shen C. et al., 2016].

Универсальное витилиго представляет собой редкий вариант несегментарного витилиго. Данная форма характеризуется генерализованной депигментацией, захватывающей $\geq 80\%$ поверхности тела, при этом могут наблюдаться ограниченные участки репигментации [Speeckaert R., van Geel N., 2017].

При сегментарном витилиго очаги депигментации расположены на одной стороне тела и не пересекают срединную линию. Кроме того, при сегментарной форме чаще наблюдается раннее вовлечение волосяных фолликулов (лейкотрихия), быстрое увеличение очагов в остром периоде с последующим стабильным течением. В редких случаях развивается несколько сегментарных очагов витилиго [Speeckaert R., van Geel N., 2017].

Витилиго диагностируют на основании клинических признаков и с помощью лампы Вуда, которая представляет собой источник ультрафиолетового излучения А с длиной волны 365 нм. Также для

выявления и мониторинга прогрессирующего очагов депигментации используется отраженная конфокальная микроскопия *in vivo* [Ardigo M. et al., 2007].

При затруднениях в дифференциальной диагностике проводится гистопатологическое исследование. В коже, пораженной витилиго, выявляется скудная инфильтрация и полное отсутствие меланоцитов [Kim Y.C. et al., 2008]. Меланоциты в пигментированном крае очага витилиго, как правило, крупнее нормальных клеток, их отличительной характеристикой является наличие дендритоподобных отростков, заполненных меланиновыми гранулами, а также выраженная вакуолизация цитоплазмы [Montes L.F. et al., 2003].

Согласно результатам, полученным Gokhale V.V. et al. (1983), которые изучили 74 образца кожи пациентов с витилиго, характерными гистологическими признаками заболевания являются отсутствие пигмента и супрабазальная вакуолизация клеток, воспалительные изменения (более характерные для свежих очагов), дегенеративные изменения (более характерные для старых очагов), периваскулярные инфильтраты, наблюдавшиеся в 92% случаев, уменьшение толщины эпидермиса, дегенерация потовых, сальных желез и волосяных фолликулов, а также дегенеративные изменения, затрагивающие нервы и нервные окончания, наблюдавшиеся соответственно в 78 и 91% случаев.

1.5 Современные подходы к лечению витилиго

Лечение витилиго является комплексной задачей в связи с особенностями патогенеза этого заболевания. Согласно результатам систематического обзора Cochrane, исследования методов терапии витилиго отличаются высокой гетерогенностью [Hossain C. et al., 2016; Whitton M. et al., 2016]. В настоящее время лечение витилиго проводится на основании

консенсусных рекомендаций [Gawkrodger D.J. et al., 2008; Taieb A. et al., 2013].

1.5.1 Медикаментозная терапия витилиго

Согласно результатам открытых исследований, системная кортикостероидная терапия останавливает прогрессирование витилиго [Lee J. et al., 2016; Radakovic-Fijan S. et al., 2001]. В рандомизированных клинических исследованиях (РКИ) показано, что УФ и топическая терапия кортикостероидами и ингибиторами кальциневрина приводят к репигментации пораженной кожи [Anbar T.S. et al., 2006; Boniface K. et al., 2017; Ho N. et al., 2011; Nicolaidou E. et al., 2007; Whitton M. et al., 2016].

Внутриочаговые инъекции кортикостероидов используются в лечении многих заболеваний кожи и подкожной клетчатки. Механизм действия глюкокортикоидов заключается в иммуносупрессии за счет подавления активности Т- и В-лимфоцитов, снижения выработки ряда цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, интерферона гамма) и компонентов комплемента, снижения количества Fc-рецепторов иммуноглобулинов, опосредованного угнетения транскрипционного фактора NF-kB [Шарафутдинова Л.А., Ломоносов К.М., 2014; Ягофаров Ф.Ф. и др., 2013].

Продемонстрирована эффективность метода в лечении гнездной алопеции и ногтевого псориаза [Chu T.W. et al., 2015; Nantel-Battista M. et al., 2014]. В то же время информация об эффективности внутрикожного введения кортикостероидов ограничена. Наиболее часто для инъекций используется триамцинолон ацетонид – малорастворимый препарат, медленно всасывающийся после инъекции и практически не имеющий системного влияния. В клинической практике используется препарат в концентрации 2,5 мг/мл [Шарафутдинова Л.А., Ломоносов К.М., 2014; Kandil E., 1970; Vasistha L.K., Singh G., 1979].

Хорошие результаты были получены в рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании, в котором оценивалась безопасность и эффективность внутриочаговых инъекций триамцинолона ацетонида в лечении витилиго. Основными побочными эффектами внутриочаговых инъекций триамцинолона были боль в месте инъекции, атрофия кожи, телеангиэктазия, гипо- и гиперпигментация. Авторы сообщают об отсутствии подавления функции надпочечников при введении суммарной дозы триамцинолона 20 мг [Kandil E., 1970].

Еще в исследовании 1979 г. Vasistha L.K. и Singh G. было продемонстрировано, что внутриочаговые инъекции триамцинолона не превосходят плацебо по эффективности при витилиго.

В 2014 г. были опубликованы результаты исследования Wang E. et al. Авторы провели курс инъекций 9 пациентам с витилиго, резистентным к топической или УФ-терапии. Препарат с концентрацией триамцинолона 3 мг/мл вводился на фоне продолжения топической кортикостероидной или УФ-терапии. В среднем лечение продолжалось на протяжении 4 месяцев, в результате была достигнута репигментация 80-90% площади очагов [Wang E. et al., 2014].

Системная кортикостероидная терапия при витилиго проводится небольшими дозами (2,5–10 мг) 2 раза в неделю, ее конечной целью является остановка прогрессирования заболевания. Продemonстрировано, что минипульс-терапия (10 мг дексаметазона 2 раза в неделю) останавливает прогрессирование витилиго у 88% пациентов [Radakovic-Fijan S. et al., 2001]. Репигментация на фоне системной кортикостероидной терапии наблюдается редко. Однако при этом наблюдаются побочные эффекты, такие как набор веса, акне, нарушения сна, гипертрихоз и нарушения менструального цикла [Radakovic-Fijan S. et al., 2001]. Сочетание системной терапии кортикостероидами с терапией узкополосным УФ-излучением удается не только остановить прогрессирование витилиго, но и добиться репигментации [Lee J. et al., 2016].

Топическая кортикостероидная терапия продолжается как минимум 6 мес и наиболее эффективна в лечении витилиго лица и шеи. При локализации очагов на теле и в особенности на кистях эффективность метода несколько ниже [Юсупова Л.А., Юнусова Е.И., 2014; Njoo M.D. et al., 1998]. Вероятность репигментации выше в более свежих очагах [Whitton M. et al., 2016].

В лечении витилиго применяются такие препараты, как такролимус и пимекролимус – представители класса ингибиторов кальциневрина. Эти препараты подавляют активацию Т-лимфоцитов и снижают продукцию провоспалительных цитокинов. Кроме того, показано, что *in vitro* ингибиторы кальциневрина стимулируют миграцию меланоцитов [Олисова О.Ю. и др., 2013; Очеленко С.А., Монахов К.Н., 2011; Jung H. et al., 2016; Jung H., Oh E.S., 2016].

Как и кортикостероиды, ингибиторы кальциневрина наиболее эффективны при очагах витилиго на лице. Наибольший эффект достигается при нанесении препарата на кожу дважды в день [Radakovic S. et al., 2009]. Установлено, что такролимус несколько более эффективен, чем пимекролимус [Lotti T. et al., 2008; van Geel N. et al., 2012].

Эффективность топической терапии витилиго кортикостероидами и такролимусом сравнивалась в ряде клинических исследований. В одном исследовании степень репигментации в группе пациентов, получавших такролимус, составила 41%, в группе, получавшей кортикостероидную терапию, степень репигментации в среднем составила 49% [Lepre V. et al., 2003].

В исследование Но N. et al. (2011) были включены 100 пациентов с витилиго, которые получали топическую терапию такролимусом или клобетазолом в течение 6 месяцев. По окончании исследования в обеих группах были достигнуты сравнимые результаты.

Эффективность пимекролимуса была продемонстрирована в небольшом исследовании, в котором приняли участие 10 пациентов. Было

показано, что при лечении витилиго крем с 0,1% пимекролимуса не уступает по эффективности крему с клобетазолом [Coskun B. et al., 2005].

Другие иммуносупрессоры редко используются в лечении витилиго, однако имеются данные об эффективности ряда препаратов этой группы. В рандомизированном клиническом исследовании было продемонстрировано, что терапия низкими дозами метотрексата не уступает по эффективности мини-пульс-терапии дексаметазоном [Singh H. et al., 2015].

В литературе описаны попытки использования антагонистов ФНО для лечения витилиго [Kim N.H. et al., 2011; Webb K.C. et al., 2015], однако в ряде исследований эффект отсутствовал и вместо этого наблюдалось прогрессирование заболевания [AlGhamdi K.M. et al., 2012; Maruthappu T. et al., 2013; Speeckaert R. et al., 2015].

Показано, что терапия витилиго циклофосфамидом (50 мг 2 раза в день) обеспечивает стойкую репигментацию, однако сопровождается серьезными побочными эффектами [Gokhale B.V., Parakh A.P., 1983].

В литературе имеются сообщения об эффективности топической терапии витилиго аналогами простагландинов [Anbar T.S. et al., 2015; Kapoor R. et al., 2009]. В пилотном сравнительном исследовании приняли участие 24 пациента с витилиго, которые были разделены на 2 группы, пациентам первой группы на очаги витилиго еженедельно наносился раствор с 0,005% латанопроста, пациенты второй группы получали такролимус раз в неделю в виде 0,1% мази. После нанесения препаратов проводились сеансы фототерапии узкополосным ультрафиолетом. Выполненное спустя 4 недели сравнение результатов показало, что степень репигментации в среднем была выше у пациентов, получавших латанопрост [Korobko I.V., Lomonosov K.M., 2016].

Как было указано выше, окислительный стресс является одним из ключевых звеньев патогенеза витилиго, поэтому топическая и системная антиоксидантная терапия также входит в арсенал препаратов, используемых при этом заболевании. Эффективность антиоксидантной терапии была

показана в ряде клинических исследований [Адаскевич В.П. и др., 2015; Лысенко В.И. и др., 2011; Махнева Н.В. и др., 2012; Leone G., Paro Vidolin A., 2015; Sanclemente G. et al., 2008].

В последние годы была предложена терапия, основанная на последовательной активации кинетики (**СКА** - sequential kinetics activation) с помощью ИЛ-4, 10 и антител к ИЛ-1. Этот подход направлен на восстановление баланса нарушенного иммунного ответа и преследует две цели:

- восстановление баланса Th1-Th17/Th2-Treg с целью уменьшения воспаления и аутоиммунной гиперактивации;

- уменьшение избыточного оксидантного стресса [Beebe A.M. et al., 2002; Dinarello C.A., van der Meer J.W., 2013; Paul W.E., Zhu J., 2010].

Показаны возможности применения низкодозной СКА с помощью ИЛ-4 и 10 при аутоиммунных заболеваниях с воспалительным компонентом, таких как витилиго и псориаз. При этом данный подход к лечению с помощью ИЛ-10 способствует противовоспалительному действию не только за счет ингибирования повышенной экспрессии провоспалительных медиаторов, но также путем стимулирования продукции противовоспалительных факторов, включая растворимые рецепторы к ФНО- α и ИЛ-1RA (антагониста рецептора ИЛ-1). Низкие дозы антител к ИЛ-1 действуют синергетически с ИЛ-4 и особенно с ИЛ-10, восстанавливая гомеостатическое соотношение между циркулирующими ИЛ-1 β и ИЛ-1RA и оказывая сильное противовоспалительное действие, в частности на ранних стадиях развития воспалительных явлений, и, возможно, замедляя распространение поражения кожи, поскольку самые высокие уровни ИЛ-1 обнаруживаются на границах между больной и здоровой кожей у больных витилиго.

Исходя из предварительных данных, полученных *in vitro*, Barygina V. et al. (2015) спланировали и провели доклиническое исследование по оценке влияния низкодозной СКА с помощью ИЛ-4, 10, b-FGF и β -эндорфина на

модуляцию внутри- и внеклеточного окислительного стресса и пролиферацию кератиноцитов человека из участков кожи, пораженной витилиго. Исследование было проведено *ex vivo* на клетках, полученных из биоптатов кожи. В результате было показано значительное снижение выраженности внутри- и внеклеточного окислительного стресса, в частности, при проведении низкодозной SKA с помощью ИЛ-4, 10 и b-FGF наряду с увеличением жизнеспособности клеток при низкодозной SKA с помощью ИЛ-10, b-FGF и β -эндорфина по сравнению с контрольными клетками из здоровой кожи, окружающей пораженные участки.

Lotti T. et al. (2015) сравнивали характеристики различных групп пациентов с витилиго, в лечении которой применялась SKA с помощью ИЛ-4/10/анти-ИЛ-1 либо с помощью b-FGF. Данные этих больных сравнивали с другими группами пациентов, получавшими местное лечение с помощью крема с дексаметазоном (отдельно или совместно с обеими группами низкодозной SKA) или узкополосного УФ-излучения (Bioskin) (отдельно или совместно с обеими группами низкодозной SKA). Группы пациентов, получавшие лечение воздействием естественного солнечного света и приемом экстракта *Ginkgo biloba*, расценивались как контрольные группы. Установлено, что низкодозная SKA с помощью b-FGF сама по себе и совместно с низкодозной SKA с помощью ИЛ-4, 10 и анти-ИЛ-1 была эффективна у большинства пациентов. Комплексное лечение с помощью низкодозной SKA и местного УФО характеризовалось лучшими результатами, что позволило авторами предположить перспективность применения этих подходов в лечении витилиго.

1.5.2 Фототерапия

К фототерапевтическим методам лечения витилиго относятся терапия узкополосным УФ излучением, фототерапия с псораленом, использование излучение эксимерного лазера и эксимерного света [Кубанов А.А. и др., 2017; Турбовская С.Н. и др., 2016; Esmat S. и др., 2017].

Терапия узкополосным УФ-излучением считается фототерапевтическим методом выбора при витилиго. Механизм действия ультрафиолета В с длиной волны 311 нм заключается в стимуляции выработки ИЛ-10, который запускает дифференцировку регуляторных Т-лимфоцитов [Ponsonby A.L. et al., 2005], продемонстрирована способность этого излучения к индукции апоптоза Т-лимфоцитов в очагах псориаза [Ozawa M. et al., 1999].

Терапия узкополосным УФ-излучением эффективна при витилиго [Прошутинская Д.В., 2009; Юсупова Л.А, Юнусова Е.И., 2014]. Признаки репигментации кожи после терапии узкополосным УФ излучением наблюдаются практически у всех пациентов, однако полная репигментация происходит лишь у небольшой части больных [Anbar T.S. et al., 2006]. Njoo M.D. et al. (2000) показали, что спустя 12 месяцев УФ-терапии полная репигментация была достигнута только в 6% случаев. Эффект не всегда сохраняется длительное время, и, по данным литературы, в половине случаев рецидивы витилиго развиваются в течение первого года после прекращения фототерапии [Nicolaidou E. et al., 2007; Sitek J.C. et al., 2007].

При наличии эффекта терапия продолжается максимум на протяжении 1-2 лет. Профилактика рецидивов после прекращения фототерапии проводится с помощью топических препаратов. Показано, что нанесение такролимуса на участки кожи дважды в день достоверно снижает риск повторной депигментации [Cavalié M. et al., 2015].

Излучение эксимерного лазера относится к ультрафиолетовой части спектра, длина волны составляет 308 нм, механизм его действия аналогичен

таковому узкополосного УФ. Однако было показано, что эксимерный лазер более эффективно индуцирует апоптоз Т-лимфоцитов [Novak Z. et al., 2002].

Эффективность эксимерного лазера в лечении витилиго была продемонстрирована в ряде клинических исследований [Пинсон И.Я. и др., 2015; Прошутинская Д.В. и др., 2009; Casacci M. et al., 2007]. Hong S.B. et al. (2005) показали, что эксимерный лазер более эффективен в терапии витилиго по сравнению с узкополосным УФ-излучением.

ПУВА-терапия – метод лечения, заключающийся в облучении кожи длинноволновым УФ-излучением (320–400 нм) после перорального приема фотосенсибилизирующего препарата. В роли фотосенсибилизатора наиболее часто используется метоксален и другие производные псоралена. При воздействии УФ-излучения метоксален образует ковалентные связи с ДНК [Averbeck D., 1989], стимулирует выделение фактора роста меланоцитов кератиноцитами и пролиферацию меланоцитов, вызывает миграцию меланоцитов за счет секреции матриксной металлопротеиназы 2 и подавляет экспрессию ассоциированных с витилиго антигенов на поверхности меланоцитов [Abdel-Naser M.B. et al., 1997; Lei T.C. et al., 2002].

Топическая ПУВА-терапия применяется для локализованного витилиго и считается более безопасным методом в связи с отсутствием системного воздействия псоралена и меньшей кумулятивной дозой УФ-излучения. Псорален в составе крема или раствора наносится на очаги витилиго за 20-30 минут до облучения [Halpern S.M. et al., 2000]. Топическая ПУВА-терапия активно применяется для лечения витилиго у детей старше двух лет [Rasifico A., Leone G., 2011].

В исследовании Yones S.S. et al. (2007) был выполнен сравнительный анализ ПУВА-терапии и узкополосной УФ-терапии. У пациентов, получавших терапию узкополосным УФ-излучением, репигментация более 50% вовлеченной кожи была достигнута у 64% пациентов, в группе, получавшей ПУВА-терапию, такой эффект наблюдался только у 36% пациентов [Yones S.S. et al., 2007].

В другом подобном исследовании приняли участие 56 пациентов. Степень репигментации была в среднем одинаковой в обеих группах, однако частота побочных эффектов, в частности, зуда, была достоверно ниже у пациентов, получавших терапию узкополосным УФ-излучением. Наилучший результат в обеих группах достигался в области лица, шеи и туловища [Saram R. et al., 2012].

По данным мета-анализа Вае J.M. et al. (2017), эффективность терапии узкополосным УФ-излучением несколько превосходит результаты применения ПУВА-терапии [Вае J.M. et al., 2017].

1.5.3. Инвазивные методы лечения витилиго

В целом методы хирургического лечения делятся на две группы: пересадка тканевых и пересадка клеточных трансплантатов. К тканевым трансплантатам относятся расщепленные кожные лоскуты, пункционные трансплантаты, мини-трансплантаты и крышки пузырей [Сабилов У.Ю., Ибрагимов Ш.И., 2013; Mohammad T.F., Hamzavi I.H., 2017; Mulekar S.V., Isedeh P., 2013].

Мини-трансплантаты представляют собой разновидность пункционных трансплантатов диаметром менее 1 мм, традиционные пункционные трансплантаты несколько крупнее – их диаметр составляет 1,5-2 мм. Реципиентные отверстия располагаются на границе очага или внутри него на расстоянии 5-8 мм друг от друга, глубина составляет 2-3 мм [Falabella R., 2005]. Полнослойные пункционные трансплантаты отбираются из донорской зоны (как правило, в ягодичной области или верхней части бедра), диаметр трансплантатов должен совпадать с диаметром реципиентных отверстий [Shenoi S.D. et al., 1997]. Затем трансплантаты помещаются в данные отверстия, и фиксируются с помощью повязок. Первые признаки репигментации наблюдаются через 2-3 недели после операции, полная

репигментация, как правило, происходит через 4-6 месяцев [Mulekar, S.V. et al., 2013].

Преимуществами пункционной трансплантации являются простота, дешевизна и отсутствие необходимости в дорогом специализированном оборудовании, однако метод не подходит для лечения обширных очагов, и иногда сопровождается косметическими осложнениями, например, кожа имеет вид «булыжной мостовой». Существует риск избыточного рубцевания и формирования келоида [Feetham H.J. et al., 2012; Fongers A. et al., 2009; Mulekar S.V., Isedeh P., 2013].

В ретроспективном исследовании на примере более чем 600 трансплантатов, пересаженных в рамках лечения витилиго, было показано, что приживление происходило в 87% случаев, как минимум частичная репигментация (более 50%) наблюдалась в 87% случаев [Feetham H.J. et al., 2012].

Метод пересадки покрывок пузырей заключается в формировании пузырей в донорской зоне (как правило, на медиальной поверхности бедра, животе или спине) за счет создания отрицательного давления. Покрывка пузыря затем срезается и переносится на пораженную кожу, предварительно подготовленную с помощью дермабразии, лазерной абразии или жидкого азота [Gupta S., Kumar B., 2003; Gupta S. et al., 1999; Ko W.C., Chen Y.F., 2009].

Преимуществами метода являются низкая стоимость и высокая эффективность. В отличие от пункционной трансплантации риск рубцевания при пересадке покрывок пузырей минимален. К недостаткам можно отнести длительное время формирования пузыря – процесс занимает от 1,5 до 3 ч. Также существует вероятность образования геморрагических пузырей, которые не могут быть использованы из-за избыточной толщины покрывки [Mohammad T.F., Hamzavi I.H., 2017; Mulekar S.V., Isedeh P., 2013].

В исследование Ashique K.T. et al. (2015) были включены 30 пациентов со стабильным витилиго, не отвечающих на медикаментозную

терапию. Средний период наблюдения составил 23,6 месяцев. Наилучшие результаты после пересадки покрывок пузырей наблюдались в очагах витилиго на лице и губах. В более крупных очагах, в частности, расположенных на конечностях, результат был менее выраженным. В 50% случаев результаты были расценены как отличные, у 30% пациентов – как хорошие.

В ретроспективном исследовании Gou D. et al. (2015) были проанализированы данные 28 пациентов с витилиго, которым в общей сложности были пересажены 129 трансплантатов (покрывок пузырей). Авторы отметили, что выживаемость трансплантатов была максимальной у пациентов моложе 20 лет (100%), у пациентов старше 40 лет выживаемость трансплантатов составила 78%. Репигментация наблюдалась в 68% случаев.

Метод расщепленных кожных лоскутов заключается в пересадке дермоэпидермальных лоскутов на пораженные области. Отбор лоскута производится с помощью специальных инструментов с бедренной или ягодичной области и пересаживается на предварительно подготовленный с помощью дермабразии или лазерной абляции депигментированный участок. Метод расщепленных кожных лоскутов приводит к быстрой и однородной репигментации пораженных участков, однако он плохо подходит для лечения витилиго в области век, ареол и гениталий. В числе наиболее распространенных осложнений расщепленного кожного лоскута – гиперпигментация, рубцевание донорской зоны и отторжение лоскута [Kahn A.M., Cohen M.J., 1995; 1998; Mohammad T.F., Hamzavi I.H., 2017; Mulekar S.V., Isedeh P., 2013].

Метод “smash grafting” представляет собой модификацию метода расщепленных лоскутов. Отбор лоскута осуществляется по той же методике, однако перед пересадкой в депигментированную область его разделяют на небольшие фрагменты до образования однородной массы без предварительной трипсинизации. Площадь донорской зоны может быть в несколько раз меньше реципиентной зоны. Масса наносится на участки

пораженной кожи и фиксируется с помощью повязки, которая снимается на 7 день после операции. Первые признаки репигментации наблюдаются уже через 2 недели после операции, через 4-6 недель репигментация достигает максимума [Mohammad T.F., Hamzavi I.H., 2017].

Метод “flip-top grafts” заключается в пересадке мини-трансплантатов под эпидермальные лоскуты в реципиентной зоне. Тонкие эпидермальные мини-трансплантаты выделяются с кожи медиальной части плеча или подмышечной области с помощью бритвенного лезвия. Далее эти мини-трансплантаты разрезаются на полоски диаметром 1-2 мм. Мини-трансплантаты помещаются под лоскуты, лоскуты фиксируются с помощью повязки, которые удаляются на 7 день после операции. Операция считается успешной при приживлении мини-трансплантатов и появлении пигментных пятен под лоскутом. Данная методика обеспечивает равномерную пигментацию и сопровождается минимальным риском рубцевания. В то же время метод “flip-top grafts” требует определенных технических навыков и пригоден для лечения небольших по площади очагов витилиго. Кроме того, метод не подходит для участков с утолщенным эпидермисом, в частности, ладоней и подошв [Ghia D., Mulekar S., 2015; McGovern T.W. et al., 1999].

Сравнительный анализ эффективности метода “flip-top graft” и пункционной трансплантации был выполнен в исследовании Sharma S. et al. (2013), в которое были включены 20 пациентов с 26 очагами витилиго. В общей сложности были пересажены 156 трансплантатов (78 пункционных, 78 “flip-top”). В зависимости от степени репигментации результат оценивался как отличный (91-100%), очень хороший (76-90%), хороший (51-75%), умеренный (31-50%) или плохой (<30%). В 65% случаев после пересадки трансплантатов “flip-top” были получены отличные результаты, после пункционной трансплантации отличные результаты удалось получить в 50% случаев. Побочные эффекты развились в 30% случаев после пересадки по методу “flip-top grafts” и в 40% случаев после пункционной биопсии. Все межгрупповые отличия были статистически значимыми.

Клеточные трансплантаты представляют собой суспензии клеток, полученные из тонких или очень тонких кожных лоскутов. Их делят на культивированные и некультивированные [Mohammad T.F., Namzavi I.H., 2017].

Некультивированные эпидермальные трансплантаты представляют собой суспензию клеток, получаемых после трипсинизации очень тонких кожных лоскутов и механического отделения эпидермиса от дермы. Затем эпидермис механически разделяется на небольшие фрагменты, которые центрифугируются в течение 5 минут. В результате образуется клеточный осадок, который ресуспендируется. Полученная суспензия используется для пересадки из расчета 0,5 мл на 100 см² кожи. После нанесения суспензии на реципиентную зону накладывается повязка, которая снимается через 4 дня при лечении очагов на голове и шее и через 7 дней после лечения витилиго в других областях. Значительным преимуществом этого метода по сравнению с другими клеточными трансплантациями является отсутствие необходимости в использовании специализированного оборудования. Пересадка некультивированных эпидермальных трансплантатов может быть выполнена в течение 1 дня. Метод считается простым с технической точки зрения и обеспечивает хорошие косметические результаты. В то же время пересадка некультивированных эпидермальных трансплантатов не подходит для лечения витилиго в области ладоней и подошв [Gauthier Y., Benzekri L., 2012; Mulekar S.V., 2003; Mulekar S.V., Isedeh P., 2013].

В проспективное исследование Huggins R.H. et al. (2012) было включено 28 пациентов с витилиго. В общей сложности было выполнено 36 пересадок некультивированных эпидермальных трансплантатов. Положительный результат после трансплантации наблюдался в 59% случаев, в 41% случаев степень репигментации не превысила 24%.

Долгосрочная эффективность пересадки меланоцитов волосяных фолликулов оценивалась в исследовании Mohanty S. et al. (2011). В общей сложности в работе было задействовано 14 пациентов со стабильным

витиго. После пересадки суспензий волосяных фолликулов средняя степень репигментации составила $65,7 \pm 36,7\%$. В 9 случаях из 14 степень репигментации превысила 75%. Результаты трансплантации у пациентов с более длительной стабильной фазой витиги были значительно лучше.

В рандомизированное исследование Singh C. et al. (2013) были включены 30 пациентов с 47 очагами витиги. Пациентам из первой группы была выполнена пересадка некультивированных эпидермальных трансплантатов, пациентам второй группы – пересадка суспензии фолликулярных клеток. Оценка результатов лечения выполнялась через 16 недель после операции. В первой группе практически полная репигментация (90-100%) была достигнута в 83% очагов, во второй группе максимальный результат был достигнут в 65% очагов. Репигментация более 75% наблюдалась в 92% очагов в первой группе и в 78% очагов во второй группе. Побочные эффекты практически отсутствовали в обеих группах.

В 2017 г. были опубликованы результаты небольшого исследования Yao L. et al. В нем приняли участие 8 пациентов со стабильным витиги. Лечение производилось с помощью пересадки культивированных меланоцитов. Авторы несколько отступили от традиционного протокола и наносили меланоциты из расчета 2500 клеток на см^2 . После пересадки проводилась фототерапия. В результате комплексного лечения через год у всех пациентов наблюдалась выраженная репигментация [Yao L. et al., 2017].

Процесс подготовки культивированных эпидермальных трансплантатов не отличается от процесса подготовки культивированных меланоцитов, однако в данном случае меланоциты и кератиноциты культивируются совместно на протяжении нескольких недель в среде, содержащей факторы роста для обоих видов клеток. Наличие двух клеточных линий способствует формированию структур, напоминающих базальный слой эпидермиса, который затем пересаживается на подготовленную реципиентную область. Преимущества у метода те же, что и у пересадки культивированных меланоцитов, однако культивирование эпидермальных

трансплантатов требует в среднем меньше времени [Ghia D., Mulekar S., 2015; Mulekar S.V., Isedeh P., 2013].

Таким образом, несмотря на все многообразие методов лечения витилиго, их эффективность сильно варьирует в зависимости от формы и локализации заболевания, в связи с чем необходимой представляется разработка и клиническая апробация новых методов лечения этой патологии. Одним из таких методов является терапия обогащенной тромбоцитами плазмы.

1.6. Обогащенная тромбоцитами плазма и опыт ее применения в различных областях медицины

Обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП) - это аутологичный продукт крови, в котором концентрация тромбоцитов в 3-5 раз превышает нормальную концентрацию тромбоцитов в крови [Knezevic N.N. et al., 2016]. В настоящее время существует более 40 коммерческих систем для получения ОТП из цельной крови. В большинстве систем ОТП получается в результате двукратного центрифугирования [Hsu W.K. et al., 2013]. Итоговая концентрация тромбоцитов зависит не только от используемой системы, но и от ряда индивидуальных особенностей пациента, в частности, возраста и наличия сопутствующих заболеваний [Mazzucco L. et al., 2009].

1.6.1 Свойства обогащенной тромбоцитами плазмы

Тромбоциты представляют собой дискообразные клетки, лишенные ядра и неспособные к самостоятельному делению. Первичной функцией тромбоцитов является их участие в гемостазе. После повреждения происходит активация тромбоцитов, в результате которой клетки высвобождают содержимое гранул, в которых содержатся факторы роста, стимулирующие процессы регенерации [Hsu W.K. et al., 2013].

Тромбоциты содержат три типа гранул – альфа, дельта и лямбда. Альфа-гранулы наиболее многочисленны, на их долю приходится до 10% объема тромбоцитов [Maunard D.M. et al., 2007]. В них содержится ряд рецепторов и растворимых белков, которые при повреждении высвобождаются во внеклеточное пространство [Coppinger J.A. et al., 2004; Maunard D.M. et al., 2007]. Эти белки модулируют процессы воспаления, гемостаза и роста клеток. Дельта-гранулы содержат молекулы, которые стимулируют гемостаз, в том числе ионы кальция, магния, аденозин и биологически активные амины серотонин и гистамин [Jedlitschky G. et al., 2004]. Лямбда-гранулы представляют собой видоизмененные лизосомы и содержат ряд ферментов, ответственных за деградацию белков, липидов и углеводов [Boswell S.G. et al., 2012].

Свойства ОТП обусловлены наличием ряда факторов роста, которые секретируются тромбоцитами после их активации. Данные факторы, содержащиеся преимущественно в альфа-гранулах, регулируют ключевые клеточные процессы, в том числе хемотаксис, митогенез и дифференцировку клеток [Garg A.K., 2000]. Факторы роста напрямую стимулируют миграцию мезенхимальных и эпителиальных клеток, их деление, синтез коллагена и других компонентов межклеточного матрикса [Sanchez A.R. et al., 2003]. Взаимодействуя друг с другом, факторы роста активируют различные внутриклеточные сигнальные пути, которые запускают регенеративные процессы [Xie X. et al., 2014].

Наиболее важными факторами роста, содержащимися в ОТП, является фактор роста тромбоцитов (PDGF), трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), эпидермальный фактор роста (EGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF) и фактор роста фибробластов (FGF) [Denapoli P.M. et al., 2016; Dimauro I. et al., 2014; Yu W. et al., 2011].

Несмотря на свое название, PDGF содержится не только в тромбоцитах, но и в моноцитах, макрофагах, фибробластах и клетках

эндотелия. Этот фактор стимулирует хемотаксис и митоз фибробластов, а также синтез коллагена и ремоделирование внеклеточного матрикса [Marques L.F. et al., 2015]. Кроме того, PDGF стимулирует хемотаксис макрофагов и нейтрофилов, усиливает секрецию TGF- β макрофагами [Behm B. et al., 2012].

TGF- β – это семейство факторов, состоящее из трех изоформ TGF- β 1, TGF- β 2 и TGF- β 3 и костного морфогенетического фактора [Davis V.L. et al., 2014]. Активная форма TGF- β 1 секретируется тромбоцитами при повреждении, стимулирует синтез коллагена и предотвращает его деградацию. Кроме того, TGF- β 1 стимулирует ангиогенез, регенерацию соединительной ткани и хемотаксис различных компонентов иммунной системы [Eming S.A. et al., 2014].

VEGF секретируется активированными тромбоцитами и макрофагами. Основной функцией данного фактора роста является формирование кровеносных сосудов [Dhillon R.S. et al., 2012]. Помимо VEGF, за процесс ремоделирования отвечает фактор роста фибробластов [Marx R.E., 2004].

EGF стимулирует хемотаксис эндотелиоцитов, ангиогенез и митоз мезенхимальных клеток. Показано, что этот фактор играет ключевую роль в эпителизации раневых поверхностей и значительно сокращает продолжительность регенеративных процессов [Berlanga-Acosta J. et al., 2009; Marx R.E., 2004]. Кроме того, EGF стимулирует секрецию цитокинов мезенхимальными и эпителиальными клетками [March L., Woolf A.D., 2010].

IGF-1 представляет собой полипептид с гормональной активностью, является нормальным компонентом плазмы, однако он содержится и в тромбоцитах. При секреции данный фактор стимулирует дифференцировку и митогенез мезенхимальных клеток. Кроме того, IGF-1 стимулирует формирование костной ткани и дифференцировку остеобластов [Weibrich G. et al., 2003].

FGF является одним из наиболее сильных митогенов, в частности, основным митогеном для мезенхимальных клеток, хондроцитов и

остеобластов [Oliveira Filho M.A. et al., 2010]. Вместе с VEGF этот фактор модулирует процессы ангиогенеза [Marx R.E., 2004].

ОТП модулирует воспалительный процесс и реакции врожденного иммунитета за счет выделения ряда цитокинов, которые активируют нейтрофилы и моноциты и стимулируют провоспалительные процессы. Основными цитокинами, ответственными за процессы миграции лейкоцитов, и секретируемыми ОТП, являются CXCL7 (NAP-2), PF4 (CXCL4) и CCL5. Все перечисленные цитокины управляют процессами хемотаксиса [Flad H.D., Brandt E., 2010]. В частности, CXCL7, представляющий собой изоформу бета-тромбоглобулина, стимулирует миграцию и активацию нейтрофилов, CCL5 ингибирует моноциты и активирует Т-лимфоциты, эозинофилы, базофилы, натуральные киллеры и дендритные клетки [Vandercappellen J. et al., 2011]. PF4 запускает процесс альтернативной активации макрофагов, в результате последние приобретают новый функциональный фенотип, обеспечивающий противовоспалительную и регенеративную функции [Gleissner C.A. et al., 2010].

Согласно последним данным, ОТП проявляет противовоспалительные свойства за счет модуляции активности NF-κB-ассоциированного сигнального пути [Bendinelli P. et al., 2010; van Buul G.M. et al., 2011]. На модели иммуногенного артрита коленного сустава показано, что ОТП способна модулировать воспалительный ответ [Lippross S. et al., 2011].

1.6.2 Опыт применения обогащенной тромбоцитами плазмы при различных патологиях

Наиболее широко ОТП используется в травматологии, ортопедии и спортивной медицине. В частности, был проведен ряд исследований, в которых оценивалась эффективность ОТП в сочетании с артроскопическими операциями в лечении травм вращательной манжетки плеча [Дейкало В.П. и

др., 2011; Носков С.М. и др., 2010; Gumina S. et al., 2012; Weber S.C. et al., 2013;].

ОТП успешно применяется для лечения остеоартроза коленного сустава [Горбатенко А.И., Костяная Н.О., 2016; Демкин С.А. и др., 2013; Маланин Д.А. и др., 2017; Широкова Л.Ю. и др., 2012; Filardo G. et al., 2012]. В 2015 г. был опубликован обзор 3 мета-анализов, в которых были представлены данные по лечению остеоартроза ОТП. Было показано, что внутрисуставные инъекции ОТП сопровождаются стойким положительным эффектом, снижая выраженность болевого синдрома [Campbell K.A. et al., 2015]. В работе Meheux C.J. et al. (2016) продемонстрировано, что инъекции ОТП более эффективны, чем инъекции растворов, содержащих гиалуроновую кислоту. Аналогичные результаты были получены в крупном рандомизированном исследовании Smith P.A. (2016). В совокупности анализ литературных данных показал, что ОТП эффективна в лечении остеоартроза коленного сустава на ранних стадиях, при более тяжелых формах заболевания эффект инъекций ОТП выражен слабее [Mlynarek R.A. et al., 2016].

В исследовании Filardo G. et al. (2010) была показана эффективность инъекций ОТП в лечении тендинита собственной связки надколенника. Применение этого метода приводило к значительному уменьшению болевого синдрома в области колена.

Благодаря широкому спектру различных факторов роста, задействованных в процессах регенерации, ОТП используется для лечения хронических ран [Оболенский В.Н., 2013]. В частности, показана высокая эффективность ОТП при трофических и диабетических язвах [Айвазян А.А. и др., 2014; Батпенова Г.Р. и др., 2014; Крайник И.В. и др., 2014; Просяникова Н.В. и др., 2012; Толстов Д.А., Богдан В.Г., 2014; Moneib H.A. et al., 2017; Suthar M. et al., 2017].

В работе Оболенского В.Н. и Ермоловой Д.А. (2012) описан опыт применения ОТП в лечении хронических трофических язв различной

этиологии. В результате курса перевязок с использованием ОТП у 66,7% пациентов была достигнута полная эпителизация раны.

Штутин А.А. и др. (2016) описали опыт применения ОТП для лечения посттравматической нейропатии периферических нервов верхней конечности. После проведения пери-эндоневролиза производилась инфильтрация эпинеуря ОТП. Авторы сообщили о значительном ускорении нейродегенеративных процессов в результате данных инъекций.

Болдырева О.В и др. (2016) описали опыт использования ОТП для лечения хронического атрофического фарингита. Авторы показали, что ОТП вызывает активизацию процессов регенерации слизистой оболочки глотки, улучшая в ней местную микроциркуляцию.

В дерматологии ОТП используется для лечения гнездной алопеции [Карнаухов В.К. и др, 2017; Мареева А.Н. и др., 2015]. В ряде клинических исследований было показано, что после проведения курса инъекций ОТП в проблемные зоны густота волос достоверно увеличивается [Donovan J., 2015; Picard F. et al., 2017; Singhal P. et al., 2015].

В последние годы в литературе появились сообщения о применении ОТП для лечения витилиго. Так, в исследование Ibrahim Z.A. et al. (2016) были включены 60 пациентов со стабильным витилиго. Очаги на левой части тела каждого пациента подвергались терапии узкополосным УФ-излучением, при лечении очагов на правой половине фототерапия сочеталась с внутрикожными инъекциями ОТП, выполнявшимися каждые две недели на протяжении 4 месяцев. В результате было выявлено статистически значимое улучшение в пигментации в группе комбинированного лечения.

В исследовании Abdelghani R. et al. (2017) приняли участие 80 пациентов с несегментарным витилиго. Пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от метода лечения: терапия углекислотным лазером, инъекции ОТП, терапия углекислотным лазером и инъекции ОТП, а также терапия углекислотным лазером в сочетании с узкополосным УФ-излучением. Лечение длилось 2 месяца. Наилучшие результаты были

получены в группе, получавшей лазерную терапию в сочетании с инъекциями ОТП.

Краткие сведения об основных методах терапии витилиго представлены в таблице 1.1.

Таблица 1.1- Основные методы лечения витилиго

Основные методы лечения витилиго

Метод	Преимущества	Недостатки	Источники
Терапия узкополосным ультрафиолетовым излучением (Narrow Band Ultraviolet B Phototherapy, NB-UVB)	- высокая эффективность метода	- малоэффективна при лечении витилиго кистей и стоп - для достижения удовлетворительного результата требуется длительный курс (несколько месяцев)	[Прошутинская Д.В., 2009; Sitek J.C. et al., 2007]
Терапия эксимерным лазером (Excimer Laser Phototherapy)	- высокая эффективность метода	- в связи с малой площадью пучка используется для лечения, локализованного витилиго - более высокая стоимость по сравнению с терапией узкополосным ультрафиолетом	[Пинсон И.Я. и др., 2015; Hong S.B. et al., 2005]
Фотодинамическая терапия (psoralen and ultraviolet A, PUVA)	- эффективна в лечении генерализованного витилиго	- побочные эффекты	[Halpern S.M. et al., 2000; Yones S.S. et al., 2007]
Топическая кортикостероидная терапия (topical corticosteroid therapy)	- метод эффективен при различных формах заболевания	- побочные эффекты (стрии, телеангиэктазии, атрофия кожи)	[Шарафутдинов а Л.А., Ломоносов К.М., 2014; Юсупова Л.А., Юнусова Е.И., 2014; Ягофаров Ф.Ф. и др., 2013; Whitton M. et al., 2016]
Внутрикожные инъекции кортикостероидов (intralesional corticosteroid injections)	- возможность использования в лабораторных условиях	- риск побочных эффектов, связанных с системной абсорбцией кортикостероидов - местные осложнения	[Шарафутдинов а Л.А., Ломоносов К.М., 2014; Kandil E., 1970; Vasistha L.K.,

			Singh G., 1979]
Системная кортикостероидная терапия (systemic corticosteroid therapy)	- высокая эффективность и возможность использования в сочетании с фототерапевтическими методами	- побочные эффекты, препятствующие проведению долгосрочной терапии	[Lee J. et al., 2016; Radakovic-Fijan S. et al., 2001]
Метод пункционной трансплантации (Punch grafting, PG)	- высокая эффективность, хороший косметический результат - простая техника - низкая стоимость	- Использование больших трансплантатов сопровождается нежелательным эффектом - «вид булыжной мостовой»	[Falabella R., 2005; Feetham H.J. et al., 2012; Fongers A. et al., 2009]
Метод трансплантации пузырьков (Suction Blister Epidermal Grafting, SBEG)	- высокая эффективность (репигментация более 75% достигается у 89% пациентов) - высокая безопасность (риск появления шрамов на донорской области минимальный)	- высокая длительность выполнения процедуры - метод может применяться только для небольших участков кожи	[Gupta S., Kumar B., 2003; Ko W.C., Chen Y.F., 2009; Mohammad T.F., Hamzavi I.H., 2017]
Метод расщепленных кожных лоскутов (Split-thickness skin grafts, STSG)	- высокая эффективность репигментации (до 90-100%) - возможность применять для лечения больших участков кожи в течение одной процедуры	- процесс получения лоскута при помощи дерматома требует высококвалифицированного персонала - нежелательные явления: различия цвета кожи в реципиентной области и появление шрамов на донорском участке	[Kahn A.M., Cohen M.J., 1995; Mulekar S.V., Isedeh P., 2013]
Метод “smash grafting”	- возможность применения небольших трансплантатов для лечения обширных очагов витилиго - простая техника	- для закрепления эффекта необходима послеоперационная фототерапия - недостаточно данных об эффективности метода	[Krishnan A., Kar S., 2012; Mohammad T.F., Hamzavi I.H., 2017]
Метод “flip-top grafts”	- обеспечивает равномерную репигментацию - минимальных риск послеоперационного рубцевания	- сложная техника выполнения - возможность использования только для лечения небольших участков кожи; метод непригоден для лечения очагов витилиго на	[Ghia D., Mulekar S., 2015; Sharma S. et al., 2013]

		ладонях и стопах	
Пересадка волосяных фолликулов (Hair follicle grafts)	- простая техника - эффективна при лейкотрихии	- Неэффективна при витилиго неволосистых участков кожи	[Mapar M.A. et al., 2014; Sardi J.R., 2001]
Трансплантация суспензии некультивированных эпидермальных клеток (Noncultured epidermal suspension)	- возможность применения в зонах поражения, превышающих размер донорского участка в 5-10 раз - проводится в амбулаторных условиях - не требует специального оборудования	- побочные эффекты	[Gauthier Y., Benzekri L., 2012; Huggins R.H. et al., 2012]
Пересадка клеток наружного влагалища волосяных фолликулов (Noncultured follicular root sheath suspension)	- небольшие количества фолликулов могут быть использованы для лечения относительно больших участков кожи	- фолликулярные меланоциты подвержены сезонным изменениям, что может приводит к неравномерной пигментации	[Mohanty S. et al., 2011; Vanscheidt W., Hunziker T., 2009]
Трансплантация культивированных аутологичных меланоцитов (Cultured melanocyte graft)	- высокая эффективность – максимальное соответствие оттенков репигментации степени пигментации непораженных участков кожи - возможность получения из небольшого фрагмента донорской кожи популяции клеток, достаточной для трансплантации в крупные очаги витилиго - возможность использования для воздействия на рефрактерные участки кожи	- высокая стоимость - необходимость специально оборудованной лаборатории и квалифицированного персонала	[Усовецкий И.А. и др., 2010; 2011; Yao L. et al., 2017]
Пересадка культивированных эпидермальных трансплантатов	- высокая эффективность - максимальное соответствие	- высокая стоимость - необходимость специально оборудованной	[Ghia D., Mulekar S., 2015; Guerra L. et al., 2003]

(Cultured epidermal graft)	<p>оттенков репигментации степени пигментации непораженных участков кожи</p> <ul style="list-style-type: none"> - возможность получения из небольшого фрагмента донорской кожи популяции клеток, достаточной для трансплантации в крупные очаги витилиго - возможность использования для воздействия на рефрактерные участки кожи - длительность культивирования ниже, чем при пересадке меланоцитов 	лаборатории и квалифицированного персонала	
Инъекции обогащенной тромбоцитами плазмы (Platelet-rich plasma injections)	<ul style="list-style-type: none"> - позволяет добиться стойкой пигментации и подготовить пациента к лечению клеточными препаратами, состоящими из кератиноцитов и меланоцитов - простота и низкая стоимость 	- недостаточно данных об эффективности и безопасности метода	[Abdelghani R. et al., 2017; Ibrahim Z.A. et al., 2015]

* * *

Таким образом, анализ литературы показал, что витилиго представляет собой многофакторное заболевание со сложным патогенезом, требующее комплексного подхода к лечению.

В настоящее время существует множество методов медикаментозного, хирургического или физического лечения, однако эти методы далеко не всегда позволяют добиться желаемых результатов. Фототерапия остается одним из наиболее распространенных методов лечения

вителиго, однако в литературе сообщается о высоком риске рецидива заболевания после прекращения терапии.

Медикаментозная терапия включает местное или системное использование ряда препаратов, преимущественно иммуносупрессоров. Наиболее изученной группой являются кортикостероиды, которые используются при лечении витилиго в виде местных или системных препаратов, но и в инъекционных формах.

Методы хирургического лечения витилиго подразделяются на тканевые и клеточные варианты трансплантации. Выполнение тканевых трансплантаций требует определенных технических навыков, в то время для поведения пересадки культивированных клеток требуется специализированное оборудование и квалифицированный персонал. В то же время методы пересадки некультивированных клеточных трансплантатов не уступают по эффективности другим хирургическим методам и не требуют специального оборудования и дорогостоящих процедур.

Появляются новые методы лечения витилиго, и одним из наиболее перспективных является терапия обогащенной тромбоцитами плазмой. В зарубежной литературе имеются скудные данные об использовании инъекций ОТП в комбинации с другими методами лечения. В данном исследовании предпринята попытка оценки эффективности и безопасности инъекций ОТП как самостоятельного метода для лечения витилиго, а также в комбинации с другими методами терапии этого заболевания.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Организация (дизайн) исследования

Работа выполнена в клинике кожных и венерических болезней имени В.А.Рахманова Университетской клинической больницы № 2 Первого МГМУ им. И.М.Сеченова (зав.кафедрой – д.м.н., профессор О.Ю.Олисова).

Обследовано 96 больных витилиго в возрасте от 19 до 59 лет (69 женщин и 27 мужчин) с длительностью заболевания от 6 месяцев до 22 лет.

Пациенты были включены в 3 группы:

- группа 1 (УФБ) - 36 больных витилиго, в лечении которых использовались стандартные подходы к терапии заболевания, при этом было использовано ультрафиолетовое излучение;

- группа 2 (ОТП) - 32 пациента, которым в лечении которых применялись инъекции обогащенной тромбоцитами плазмы;

- группа 3 (УФБ+ОТП) - 28 пациентов, которым проводилась комплексная терапия с использованием инъекций ОТП, а также ультрафиолетового облучения.

Для сравнения лабораторных исследований использовали данные 40 здоровых доноров (контрольная группа).

Критерии включения пациентов в исследование:

- мужчины и женщины в возрасте от 18 до 60 лет;
- пациенту поставлен диагноз «витилиго», при этом площадь поражения кожных покровов занимает до 10 % поверхности тела;
- пациент может понять суть исследования и подписать информированное согласие.

Критерии невключения пациентов в исследование:

- наличие сопутствующей соматической патологии у пациентов в стадии обострения, нарушения функции печени, алкоголизм, наркомания, психические расстройства, онкологические заболевания;

- беременность, кормление грудью;
- наличие в прошлом или в настоящий момент злокачественных новообразований кожи;
- случаи келоидных образований в анамнезе.

Пациент мог быть исключен из исследования в соответствии со следующими **критериями исключения:**

- желание пациента прекратить участие в исследовании;
- несоблюдение пациентом режима, назначенной схемы обследования и лечения;
- выявление непереносимости лечения;
- беременность во время исследования.

Больным витилиго было проведено стандартное клиническое обследование, которое включало изучение анамнеза заболевания и жизни, жалоб пациентов, оценку дерматологического статуса, осмотр с использованием люминесцентной лампы Вуда, измерение площади депигментированных очагов с использованием линейки.

Лабораторные исследования проводились в межклинической биохимической и иммунологической лаборатории Первого МГМУ им. И.М.Сеченова и включали:

- общеклиническое исследование: общий анализ крови, биохимический анализ крови, исследования крови перед выполнением инвазивных манипуляций (определение АТ/АЛ к ВИЧ ; сифилису ТРНА; Anti-HCV ; HBsAg);
- иммунологические исследования: оценку уровней фактора роста эндотелия сосудов и изучение концентраций цитокинов - интерлейкинов-1, 6, 8, 10, фактора некроза опухоли-альфа.

Проводилось также определение меланина в пораженных участках.

Клиническую эффективность использованных методов оценивали после окончания курса лечения по динамике площади поражения с расчетом процента репигментации. «Улучшение» констатировали при выявлении

репигментации кожи на площади, составлявшей не менее 25-50% от первоначальной площади поражения, как «значительное» расценивали улучшение в размере 51 - 95%, «полное клиническое улучшение» фиксировали при достижении репигментации 96-100% площади очагов. Отсутствие эффекта констатировали при восстановлении пигментации на площади, занимавшей менее 15% от исходной площади поражения. Также изучали отдаленные результаты терапии на основании оценки стойкости образовавшейся в процессе фототерапии пигментации и выявления отсутствия прогрессирования заболевания.

2.2 Методы лечения витилиго

В качестве фоновой терапии в обеих группах пациентов было использовано минимальное медикаментозное воздействие (витамины, гепатопротекторы, сосудистые препараты).

Лечение больным витилиго группы 1 было проведено с использованием узкополосной фототерапии УФБ-лучами длиной 311 нм. Количество процедур на курс составило 16 - 48, среднее - 32. Максимальная доза излучения варьировала от 0,5 до 2,4 Дж/см² (в среднем 1,45 Дж/см²), курсовая доза - от 2,2 до 32 Дж/см² (14,7 Дж/см² в среднем).

В лечении пациентов группы 2 была использована обогащенная тромбоцитами плазма.

Пациентам группы 3 проводилось комплексное лечение с применением обоих методов - УФБ и обогащенной тромбоцитами плазмы.

Применение ОТП заключалось в инъекционном введении обогащенной тромбоцитами собственной плазмы (аутоплазмы) в ткани человека. Известно, что в норме в крови человека количество тромбоцитов составляет $150-350 \times 10^3$ на микролитр крови. В рамках выполнения данного метода используют плазму крови, содержащую 1 млн тромбоцитов на мкл

крови, так называемую обогащенную тромбоцитами плазму. Плазма крови, в которой содержатся меньшие количества тромбоцитов, не обладает стимулирующим влиянием.

Тромбоциты играют основную роль в механизме действия данного метода. К настоящему времени показано, что эти клетки необходимы для обеспечения процессов заживления и регенерации поврежденных тканей. Тромбоциты высвобождают в поврежденные ткани факторы роста, которые стимулируют деление и рост поврежденных клеток. Факторы роста представляют собой ряд полипептидных молекул, к которым относятся: тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста (TGF- β), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста эпителия (EGF), фактор роста фибробластов (FGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF). Повышение концентрации тромбоцитов способствует увеличению уровня вышеперечисленных факторов роста в используемой ОТП.

Противопоказаниями к применению данного метода являются:

- наличие у пациента системных заболеваний крови;
- прием антикоагулянтов;
- наличие злокачественных новообразований;
- сахарный диабет (в декомпенсированной стадии);
- беременность и период лактации.

Процедура включала забор крови, получение аутоплазмы (ОТП), введение аутоплазмы пациенту. Общая схема процесса представлена на рисунке 2.1.

Рисунок 2.1. Приготовление ОТП

Этапы приготовления отражены на рисунках 2.2.-2.4.

Забор крови осуществляли стандартно, с помощью периферического венозного катетера либо иглы большого диаметра, чтобы не повредить форменные элементы крови (рисунок 2.2). Объем крови обычно составлял 35-50 мл и не зависит от предполагаемой площади введения ОТП.



Рисунок 2.2 Этап 1: забор крови

После забора кровь помещали в стандартные стерильные пробирки, содержащие антикоагулянт. Для получения ОТП кровь подвергалась центрифугированию (рисунок 2.3).

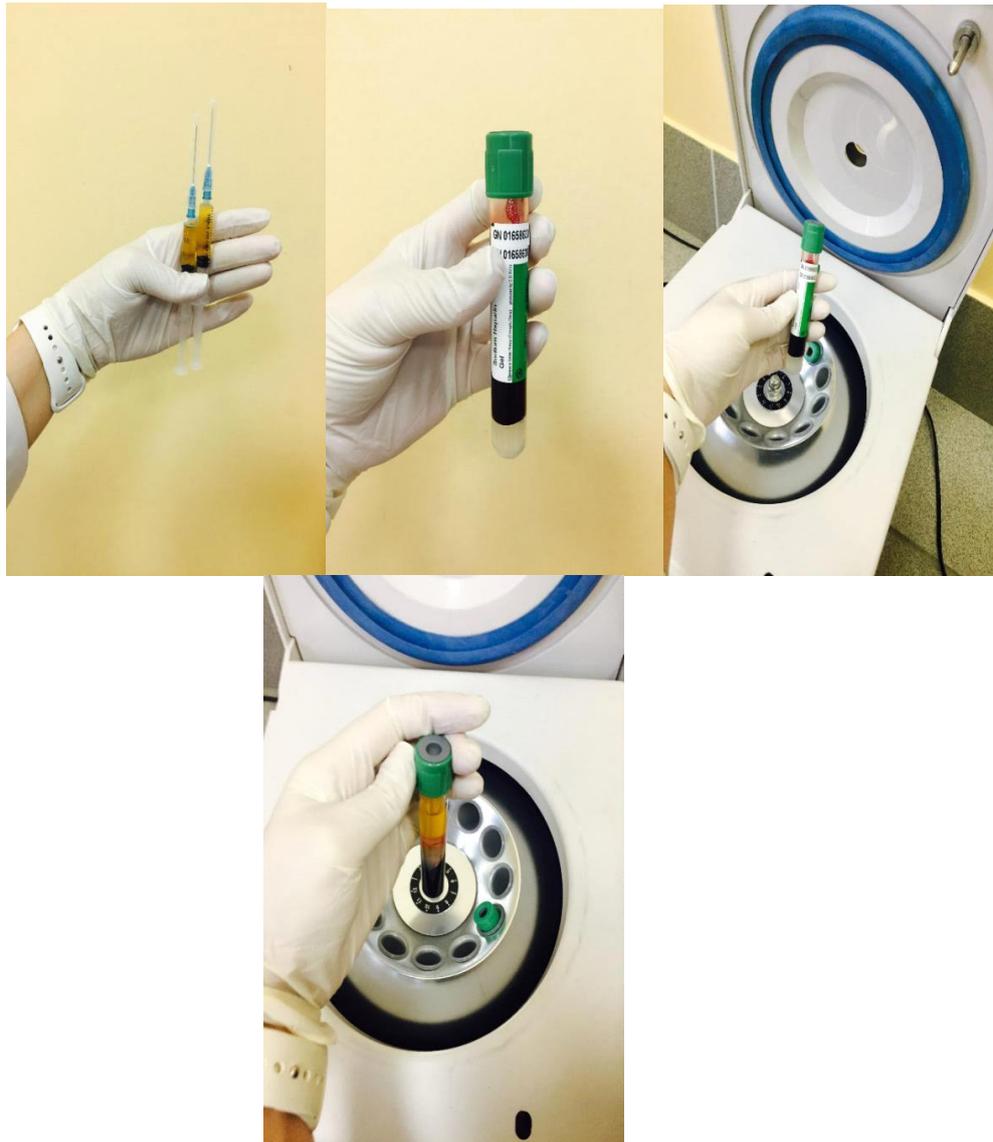


Рисунок 2.3 Этап 2: центрифугирования и получение обогащенной тромбоцитами плазмы

Далее проводили основной этап процедуры - внутрикожные инъекции полученного плазменного концентрата с помощью классической мезотерапевтической терапевтической техники «микропапул (рисунок 2.4).



**Рисунок 2.4 Этап 3: введение аутоплазмы пациенту
внутрикожные инъекции классической мезотерапевтической техникой
«микропапул»**

Пациентам основной группы проводили по 5-7 процедур с интервалом 10-14 дней.

2.3. Методы исследования

Для уточнения соматического статуса у всех больных был тщательно собран анамнез жизни и заболевания. Данные анамнеза включали сведения о продолжительности и характере течения заболевания, провоцирующих факторах, распространенности и локализации процесса, используемых методах лечения и их эффективности, наличии аналогичных симптомов у других членов семьи.

Для выявления сопутствующей патологии различных органов и систем, был проведен ряд общеклинических обследований больных до и после проведенной терапии.

Проводили инструментальные исследования (ультразвуковое исследование органов брюшной полости, щитовидной железы, почек, органов малого таза, ЭКГ), при необходимости пациенты были консультированы терапевтом, эндокринологом, гинекологом (урологом) и другими специалистами.

Лабораторное исследование клинических и биохимических параметров крови проводили в межклинической биохимической и иммунологической лаборатории Первого МГМУ им. И.М.Сеченова. Исследования выполнялись по стандартным общепринятым методикам всем пациентам до начала лечения и после проведенной терапии.

2.3.1 Определение уровней цитокинов и фактора роста эндотелия сосудов: обоснование и методы оценки

Сложность клеточных механизмов, участвующих в развитии витилиго, является, очевидно, критической точкой для понимания этиопатогенетических аспектов заболевания. Как показано в гл.1,

современные научные данные о кожных заболеваниях с депигментацией, в частности, данные о межклеточном взаимодействии кератиноцитов и меланоцитов, опосредованных цитокинами и факторами роста, позволяют специалистам глубже оценить возможную терапевтическую роль этих медиаторов для лечения витилиго [Nguyen T.V. et al., 2013; Nouri-Koupraee A. et al., 2015].

Хроническое воспаление является важным компонентом этиопатогенеза витилиго. Поскольку витилиго представляет собой системное хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание, важнейшим этиологическим фактором которого является патогенетическая взаимосвязь между окислительным стрессом и хроническими воспалительными процессами, вторичными по отношению к повышению уровней цитокинов клеток Th1/Th17 (ИЛ-1, 17, ИФН- γ и ФНО- α), то предложить оригинальное и инновационное лечение можно лишь воздействуя на эту первопричину.

Очевидно, что возможность эффективной модуляции клеточной сигнализации посредством конкретных цитокинов, антител и факторов роста может представлять собой многообещающую терапевтическую цель.

Как было отмечено в гл.1, важнейшим звеном патогенеза витилиго является разрушение меланоцитов цитотоксическими (CD8+) лимфоцитами [van den Boorn J.G. et al., 2009]. Эти клетки продуцируют ряд цитокинов, которые взаимодействуют с пептидами, регулирующими дифференцировку меланоцитов [Elela M.A. et al., 2013; Tembhre M.K. et al., 2013]. У больных витилиго, как правило, выявляется увеличение концентраций цитокинов, при этом вокруг очагов витилиго формируется провоспалительное окружение, наблюдается также повышенный уровень провоспалительных цитокинов интерлейкинов -1, 6, 8, ФНО- α , в сыворотке крови. Имеются сообщения о том, что ФНО- α непосредственно участвует в патогенезе заболевания [Alghamdi K.M. et al., 2012].

Повышенные уровни провоспалительных цитокинов, катехоламинов и оксида азота (NO), а также нарушенная активность факторов роста

уменьшают экспрессию антиоксидантных молекул, являющихся основными прооксидантными факторами, наблюдаемыми при витилиго [Westerhof W., d'Ischia M., 2007; Thannickal V.J. et al., 2000; Jain D. et al., 2008].

Наличие хронического воспаления и нарушения иммунного ответа индуцируют апоптоз кератиноцитов. В частности, ФНО- α уменьшает активацию пути PI3K/Akt и подавляет механизм, блокирующий ядерный фактор NF- κ B, активируя таким образом этот фактор. Усиленный NF- κ B провоспалительный ответ приводит к сверхэкспрессии Th1-цитокинов, таких как ИЛ-6, 33 и ФНО- α , усиливая отрицательную обратную связь [Li P. et al., 2015].

Апоптоз кератиноцитов индуцирует снижение секреции факторов ET, SCF и b-FGF [Choi H.R. et al., 2010] с последующей нарушенной стимуляцией меланоцитов; ИЛ-33 также способствует нарушению взаимодействия между кератиноцитами и меланоцитами за счет снижения секреции факторов роста [Li P. et al., 2015]. Нарушение роста меланоцитов является основной причиной снижения уровня меланина в области витилиго. Высокие уровни ИЛ-1 и 33 в области витилиго свидетельствуют о важнейшей роли повышения экспрессии данных интерлейкинов в развитии витилиго. Хроническое провоспалительное микроокружение, в основном определяемое уровнями ИЛ-1, 33 и ФНО- α , является ключевым фактором, нарушающим взаимодействие между кератиноцитами и меланоцитами, что, в свою очередь, приводит к нарушению влияния факторов роста.

Полученные к настоящему времени убедительные данные о развитии иммунной реакции против меланоцитов при витилиго послужили основанием к изучению в рамках нашего исследования концентраций основных провоспалительных цитокинов в качестве своего рода биомаркеров для оценки патогенетической обоснованности применения ОТП в лечении данного заболевания.

Цитокиновый статус больных витилиго путем определения концентраций важнейших цитокинов с помощью иммуноферментного

анализа (ИФА) с использованием соответствующих моноклональных антител, иммобилизованных на поверхности лунок полистиролового планшета из наборов тест-систем «ИФА-БЕСТ».

В ходе определения также оценивали концентрацию фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови пациентов с витилиго.

На первом этапе образцы плазмы инкубировали в лунках с иммобилизованными антителами (АТ), специфичными к пространственно удаленным эпитопам исследуемого антигена. Связанные с АТ рецепторные антагонисты к исследованным цитокинам, выявляли при инкубации с антителами, конъюгированными с ферментной меткой. Количество связанного конъюгата определяли цветной реакцией с использованием субстрата (пероксидазы хрена) и хромогена (тетраметилбензидина). Останавливали реакцию добавлением в лунки по 50 мкл стоп-реагента, представляющего собой раствор серной кислоты в концентрации 1 моль/л. Результаты ИФА регистрировали с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность на длине волны 450 нм. Измерения проводили не позднее 10-15 мин после остановки реакции.

2.3.2 Оценка содержания меланина в коже

С целью количественной оценки содержания меланина в пораженных участках кожи применяли неинвазивный метод диагностики – мексаметрию. Исследование было выполнено с помощью аппарата CUTOMETER MPA 580 SK Electronic (Германия) с насадкой МЕХАМЕТЕР МХ 18. Принцип метода заключается в том, что электромагнитные волны инфракрасной (870 нм), зеленой (568 нм) и красной частоты (660 нм), которые генерируются датчиком-измерителем, проходят через кожу и поглощаются гемоглобином и меланином, рассеиваясь коллагеновыми волокнами дермы, проходя затем обратный путь через слои дермы и эпидермиса.

Спектральный состав отраженного кожей света видимого диапазона определяется преимущественно количеством гемоглобина и меланина, при этом меланин способен поглощать свет в широком длинноволновом диапазоне (от ультрафиолетового до инфракрасного). Гемоглобин имеет характерные полосы поглощения в спектральных диапазонах около 420 и 545-575 нм. Свет, отраженный от исследуемой ткани, воспринимает встроенный приемник. При помощи инфракрасных волн двух частот, подобранных, так, чтобы достичь двух различных уровней поглощения света меланином, измеряется соответственно его количество, и устанавливается среднее значение.

В зависимости от локализации поражения пациенту было предложено занять удобное для него положение. К пораженному участку кожи подносили датчик, который излучает свет трех длин волн. Приемное устройство определяет свет, отраженный от кожи. Результаты, полученные при измерении, выводились на табло в цифровом виде.

2.3.3 Оценка качества жизни пациентов

Качество жизни пациентов с витилиго оценивали с помощью дерматологического индекса качества жизни (ДИКЖ), для этого проводили анкетирование больных. Метод был предложен исследователями из Великобритании в Finlay A. и Khan G. (1994) и адаптирован к применению в России Кочергиным Н.Г. в 2001 г. Анкетирование проводили до и после лечения спустя 6 и 12 мес. Анкета состоит из 10 вопросов, которые охватывают различные аспекты жизни больного: профессиональные, бытовые, сексуальные, социальные, личностные. Целью исследования является оценка степени влияния кожного заболевания на образ жизни больного.

Вопросы для определения ДИКЖ:

- Испытывали ли Вы зуд, жжение или болезненность на прошлой неделе?
- Испытывали ли Вы ощущение неловкости или смущение в связи с состоянием Вашей кожи?
 - Как сильно Ваши проблемы с кожей мешали Вам заниматься уборкой дома или покупками?
 - Насколько сильно состояние Вашей кожи влияло на выбор Вашего гардероба на прошлой неделе?
 - Как сильно влияло состояние Вашей кожи на Ваш досуг и социальную активность на прошлой неделе?
 - На прошлой неделе состояние Вашей кожи мешало Вам заниматься спортом?
 - Пропускали ли Вы учёбу, отсутствовали на работе из-за состояния Вашей кожи? Если Вы ответили «нет», то насколько сильно Вас беспокоило состояние Вашей кожи, когда вы находились на работе или учёбе?
 - Влияло ли состояние Вашей кожи на Ваши отношения с родственниками, партнерами, друзьями на прошлой неделе?
 - Насколько сильно Ваши проблемы с кожей влияли на Вашу сексуальную жизнь?
 - На прошлой неделе насколько сильно лечение заболевания кожи причиняло Вам неудобства, отнимало время, создавало проблемы?

На каждый вопрос предлагается 4 варианта ответа, каждый из которых оценивается соответственно от 0 до 3 баллов. Максимальная сумма баллов может равняться 30, при этом качество жизни пациента обратно пропорционально сумме баллов.

Интерпретация значений ДИКЖ:

0-1 балл – нет влияния на жизнь пациента;

2-5 балла – заболевание оказывает незначительное влияние на жизнь пациента;

6-10 баллов – заболевание оказывает умеренное влияние на жизнь пациента;

11-30 баллов – заболевание оказывает очень сильное влияние на жизнь пациента;

21-30 баллов – заболевание оказывает чрезвычайно сильное влияние на жизнь пациента.

Дерматологический индекс качества жизни применяется как критерий оценки тяжести состояния больного, а также в качестве критерия оценки эффективности проводимого лечения. При этом уменьшение значения индекса в процессе лечения означает улучшение качества жизни больного.

2.4 Статистический анализ полученных данных

Статистическая обработка полученных данных выполнена при помощи пакета программ статистической обработки данных STATISTICA for Windows 10,0 с помощью методов параметрической и непараметрической статистики. Количественные показатели, оцененные в динамике, представляли в виде среднего значения параметра со стандартной ошибкой среднего значения. При анализе качественных показателей рассчитывали частоту встречаемости признаков в процентах.

При выявлении различий количественных показателей применяли t-критерий Стьюдента (после оценки распределения признаков на соответствие закону нормального распределения) либо непараметрический U-критерий Манна – Уитни.

Для анализа межгрупповых различий по количественным показателям использовался t-критерий Стьюдента при сравнениях групп с нормальным распределением показателей, в то время как межгрупповые сравнения по количественным показателям, распределенным ненормально, проводились с применением рангового непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Оценку значений исследуемых показателей на нормальность распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка с пороговым значением уровня статистической значимости нулевой гипотезы, равным 0,1.

Сравнения групп по качественным параметрам осуществляли с использованием критерия хи-квадрат (точного критерия Фишера в случае малых ожидаемых частот в ячейках таблицы 2×2 , не превышающих 10). Пороговое значение уровня статистической значимости нулевой гипотезы для всех межгрупповых сравнений составляло 0,05.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая характеристика больных витилиго

Обследовано 96 больных витилиго в возрасте от 20 до 59 лет, средний возраст $38,5 \pm 17,3$ года, с длительностью заболевания от 6 месяцев до 22 лет. Критерии включения-невключения пациентов в исследование и группы больных приведены в гл.2.

На рисунке 3.1 представлено распределение больных по полу. В группе 1 (УФБ) доля больных мужского пола составил 30,6% (11 пациентов), в группе 2 (ОТП) — 25,0% (8 мужчин), в группе 3 (УФБ+ОТП) - 28,6 % (8 человек). Количество женщин в группах было значительно больше: 25 (69,4%) в группе 1 и 24 (75,0%) в группе 2, 20 пациенток (71,4 %) - в третьей группе. Статистически значимых межгрупповых различий по полу выявлено не было ($p > 0,05$).

Распределение по возрасту в группах исследования также существенно не различалось (рисунок 3.2). Минимальной была доля пациентов в возрасте старше 50 лет - в группе 1 (УФБ) было равно 4, в группе 2 (ОТП) — 1, в группе 3 (УФБ-ОТП) - что соответствовало 11,1%; 3,1% и 10,7 % общего количества пациентов в группах. Количество больных в возрасте от 40 до 49 лет составило 8 (22,2%) в группе 1 (УФБ), 9 человек (28,1%) в группе 2 (ОТП) и 7 пациентов (25,0 %) в группе 3 (УФБ+ОТП).

Рисунок 3.1 Распределение пациентов по полу

Наиболее многочисленной была группа пациентов в возрасте 30-39 лет: количество таких больных составило 17 (47,2%) в группе 1 (УФБ), 18 (56,3%) в группе 2 (ОТП) и 13 (46,4 %) пациентов в группе 3 (УФБ+ОТП).

Возрастную группу от 20 до 29 лет составили 7 пациентов первой группы, четверо больных второй группы и 5 пациентов третьей группы, их доли составили соответственно 19,5%; 12,5% и 17,9 %. Значимых межгрупповых различий по возрастному распределению выявлено не было.

Рисунок 3.2. Распределение пациентов по возрастным группам

Анализ распределения пациентов по формам витилиго показал, что сегментарная форма заболевания была диагностирована в группе 1 (УФБ) - у 18 (50 %) больных, в группе 2 (ОТП) - у 17 (53,1 %) пациентов, в третьей группе (УФБ+ОТП) - в 13 случаях (46,4%) (таблица 3.1).

Несегментарная форма болезни, в частности, фокальная, наблюдалась в группе 1 (УФБ) в 3 (8,3 %) случаях, в группе 2 (ОТП) - у 3 (9,4 %) пациентов, в группе 3 (УФБ+ОТП) - у 4 пациентов (14,3%).

Вульгарная форма витилиго была отмечена в первой группе - в 6 (16,7 %) случаях, во второй группе - у 3 (9,4 %) пациентов, в третьей - у 4 больных (14,3 %).

Акрофациальная форма витилиго в двух первых группах была выявлена в 9 случаях, что составило 25,0 % в группе 1 (УФБ) и 28,1 % в группе 1 (ОТП). В группе 3 (УФБ+ОТП) эта форма заболевания была отмечена у 7 больных (25,0 %).

Таблица 3.1- Распределение больных по клиническим формам заболевания

Клинические формы	Группа 1 (УФБ) n=36		Группа 2 (ОТП) n=32		Группа 3 (УФБ+ОТП) n=28	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Сегментарная форма	18	50,0	17	53,1	13	46,4

Несегментарная форма						
- фокальная	3	8,3	3	9,4	4	14,3
- вульгарная	6	16,7	3	9,4	4	14,3
- акрофациальная	9	25,0	9	28,1	7	25,0

Как видно из рисунка 3.3, длительность витилиго мене 5 лет наблюдалась в группе 1 (УФБ) у 16 (44,5 %) больных, в группе 2 (ОТП) - у 14 (43,8 %) пациентов, в группе 3 (УФБ+ОТП) - в 10 случаях (35,7 %), значимых межгрупповых различий при этом отмечено не было. Длительность заболевания 6-10 лет была установлена у 9 (25,0 %) больных группы 1 (УФБ), а в группе 2 (ОТП) - у 7 (21,9 %) пациентов и у 8 (28,6 %) больных третьей группы.

Заболевание длилось в течение 11-20 лет у 8 больных группы 1 (УФБ) (22,2 %), в 9 случаях (28,1 %) в группе 2 (ОТП) и у такого же количества больных группы 3 (УФБ+ОТП), что составило 32,1 %. Минимальной была доля больных с длительностью болезни свыше 20 лет - у 3 (8,3 %) больных группы 1 (УФБ), у 2 (6,2 %) пациентов группы 2 (ОТП) и в одном случае (3,6 %) в третьей группе.

Рисунок 3.3 Длительность заболевания

В качестве наиболее частой области локализации процесса было отмечено туловище - примерно у трети больных каждой группы - в 21,3-33,3 % случаев.

Голова и шея были поражены в группе 1 (УФБ) у 8 (22,2 %) больных, в группе 2 (ОТП) - у 9 (28,1 %) пациентов, в группе 3 (УФБ+ОТП) - в 8 случаях (28,6 %). Процесс локализовался преимущественно на верхних конечностях у 9 пациентов (25,0 %) первой группы, у 6 больных второй и

третьей групп, что составило соответственно 18,7 и 21,4 % (рисунок 3.4). Очаги витилиго преимущественно на нижних конечностях было отмечены в группе 1 (УФБ) у 7 (19,5 %) больных, в группе 2 (ОТП) - также у 7 (21,9 %) пациентов, в группе 3 - у 5 (17,9 %) больных.

Рисунок 3.4 Преимущественная локализация процесса

В таблице 3.2 представлено наличие сопутствующих заболеваний у пациентов, включенных в исследование. Болезни системы кровообращения были выявлены в группе 1 (УФБ) у 5 (13,9 %) больных, в группе 2 (ОТП) - у 6 (18,8 %) пациентов, в группе 3 (УФБ+ОТП) - у 5 больных (17,9 %).

Болезни системы дыхания наблюдались у 4 (11,1 %) больных первой группы, у 2 (5,6 %) второй группы и у 4 пациентов (14,3 %) третьей группы.

Чаще всего у обследуемых больных выявлялись сопутствующие заболевания ЖКТ (хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки), которые были отмечены у 10 (27,8 %) больных группы 1 (УФБ), в 9 (28,1 %) случаях во второй группе (ОТП) и у 9 больных (32,1 %) третьей группы.

Таблица 3.2-Наличие сопутствующих заболеваний у больных витилиго

Заболевания	Группа 1 (УФБ) n=36		Группа 2 (ОТП) n=32		Группа 3 (УФБ+ОТП) n=28	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Болезни системы кровообращения	5	13,9	6	18,8	5	17,9
Болезни системы дыхания	4	11,1	2	5,6	4	14,3
Заболевания ЖКТ (хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки)	10	27,8	9	28,1	9	32,1
Заболевания печени и желчевыводящих путей (хронический холецистит, желчнокаменная болезнь, дискинезия желчевыводящих)	8	22,2	9	28,1	7	25,0

путей)						
Сахарный диабет 2 типа	2	5,6	3	9,4	3	10,7
Алиментарное ожирение	7	19,4	5	15,6	6	21,4
Болезни почек и мочевыводящих путей	6	16,7	8	25,0	6	21,4
Аллергические заболевания	6	16,7	5	15,6	5	17,9

Болезни печени и желчевыводящих путей (хронический холецистит, желчнокаменная болезнь, дискинезия желчевыводящих путей) были выявлены в группе 1 (УФБ) у 8 (22,2 %) больных, в группе 2 (ОТП) - у 9 (28,1 %) пациентов и у 7 пациентов (25,0 %) третьей группы (УФБ+ОТП).

Сахарный диабет был диагностирован в 2 случаях в группе 1 (УФБ) (5,6 %), у 3 (9,4 %) пациентов группы 2 (ОТП) и у 3 больных (10,7 %) группы (УФБ+ОТП).

Алиментарное ожирение наблюдалось у 7 (19,4 %) больных группы 1 (УФБ), в 5 (15,6 %) случаях в группе 2 (ОТП) и у 6 больных (21,4 %) группы 3 (УФБ+ОТП).

Болезни почек и мочевыводящих путей были выявлены в первой группе у 6 (16,7 %) человек, во второй группе (ОТП) - у 8 (25,0 %) больных, в третьей группе - у 6 (21,4 %) пациентов.

Аллергические заболевания были диагностированы у 6 больных (16,7 %) группы группы 1 (УФБ), в 5 случаях (15,5 %) в группе 2 (ОТП) и у 5 пациентов (17,9 %) группы 3.

3.2. Сравнительная оценка эффективности различных методов лечения витилиго

Результаты сравнительного анализа эффективности лечения больных с витилиго представлены на рисунке 3.5. При клинической оценке

эффективности лечения витилиго с помощью разных подходов согласно имеющимся критериям эффекты квалифицировали как полный (100%), выраженный (от 51 до 99%), умеренный (от 25 до 50%) и слабый (менее 25 %) эффект от проводимого лечения либо полное отсутствие эффекта.

На фоне инъекций ОТП полный эффект лечения был достигнут в 15,6% случаев (у 5 больных), в в группе 1 (УФБ) достижение полного эффекта наблюдалось несколько реже — у 13,9% (5) пациентов, в группе 3 (УФБ+ОТП) частота достижения полного эффекта была существенно выше - 10 случаев (35,7 %).

Частота выраженного (от 51 до 99%) эффекта от терапии также была выше у больных второй и третьей групп, где значения показателя составили соответственно 53,1% и 57,1 % против 47,2% случаев в группе 1 (УФБ).

Абсолютное количество больных с выраженным эффектом проведенного лечения в группах 1 (УФБ) и 2 (ОТП) составило 17, в группе 3 (УФБ+ОТП) - 16.

Рисунок 3.5 Сравнительная оценка эффективности лечения больных ВИТИЛИГО

Умеренный и слабый эффект проводимой терапии, наблюдался в группе 2 (ОТП) у 6 и 3 пациентов, соответственно, что составляло 18,8% и 9,4%, в третьей группе было по 1 пациенту (3,6 %) с подобной выраженностью эффекта лечения витилиго.

В группе 1 (УФБ) частота умеренного и слабого эффекта терапии при проведении фототерапии достигала 22,2% (8 пациентов) и 11,1% (4 больных).

Отсутствие эффекта наблюдалось в группе 1 (УФБ) у 2 пациентов (5,6 %), в группе 2 (ОТП) - у одного больного (3,1 %), тогда как в группе 3 (УФБ+ОТП) таких случаев не было.

Таким образом, терапия ОТП в настоящем исследовании показала эффективность, превосходящую таковую, наблюдаемую при использовании стандартных методик лечения витилиго. Применение исследуемого подхода позволяет достигнуть ответа на лечение от умеренного до полного эффекта в 87,5% случаев. Кроме того, частота достижения ответа на лечение от выраженного эффекта до полного разрешения клинических проявлений в группе 3 (УФБ+ОТП) была выше по сравнению с группами 1 и 2, однако статистическая значимость межгрупповых различий по частоте достижения ответа на лечения не подтвердилась ($p>0,05$ для всех сравнений).

3.3 Динамика уровней цитокинов у больных витилиго при использовании различных подходов к лечению

В ходе настоящей работы также проводилась динамическая оценка уровней ряда провоспалительных цитокинов на фоне проводимой терапии. Установлено, что до лечения средние уровни ИЛ-1 в группах 1, 2, 3 составили $5,9\pm 0,9$, $6,2\pm 1,1$ и $6,1\pm 1,4$ пг/мл, соответственно (рисунок 3.6). Таким образом, значения данного показателя до лечения в группах исследования были сопоставимы между собой ($p>0,05$), однако превышали средний уровень ИЛ-1 в сыворотке крови обследуемых контрольной группы, который был равен $2,8\pm 0,4$ пг/мл.

После проведенной терапии во всех группах отмечалось снижение средних уровней ИЛ-1 — до $4,4\pm 0,4$ пг/мл в группе 2 (ОТП), до $4,9\pm 0,6$ пг/мл в группе 1 (УФБ) и до $3,2\pm 0,6$ пг/мл в группе 3 (УФБ+ОТП). В первых двух группах показатели после лечения превышали таковые в группе лиц контрольной группы, однако в группе 3 уровень этого цитокина был достоверно ниже, чем в группах 1 и 2 ($p<0,05$). При этом значение данного

показателя у пациентов группы 3 (УФБ+ОТП) статистически значимо не отличалось по сравнению с контрольным уровнем.

Кроме того, динамика уровня ИЛ-1 в первой группе была статистически недостоверной ($p>0,05$), в то время как в группах 2 и 3 после проведенного курса терапии отмечалось статистически значимое снижение уровня ИЛ-1 по сравнению с исходными значениями данного показателя в группе до лечения ($p<0,05$).

Рисунок 3.6 Концентрация ИЛ-1 в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

Средние значения показателя ИЛ-6 до лечения были равны $5,9\pm 0,8$ пг/мл в группе 1 (УФБ), $5,8\pm 0,5$ пг/мл в группе 2 (ОТП) и $6,1\pm 1,3$ - у пациентов группы 3 (УФБ+ОТП) (рисунок 3.7). Средние уровни данного цитокина в группах до лечения значимо не различались ($p>0,05$), несколько превышая при этом средний уровень ИЛ-6 в контрольной группе, который составлял $3,9\pm 0,8$ пг/мл.

После проведенного лечения уровни ИЛ-6 снизились во всех группах больных витилиго, достигнув средних значений $5,0\pm 0,3$ пг/мл и $5,2\pm 0,5$ пг/мл в первых двух группах, а также $3,4\pm 0,2$ пг/мл - в группе 3 (УФБ+ОТП). У пациентов первых двух групп значения данного параметра по-прежнему превышали средний уровень ИЛ-6 в контрольной группе, межгрупповые различия по среднему уровню ИЛ-6 после лечения также не достигли уровня статистической значимости ($p>0,05$). В то же время у пациентов третьей группы, получавших комбинированное лечение, значение данного показателя составило $3,4\pm 0,2$ пг/мл и было значимо ниже ($p<0,05$), чем в других группах.

Рисунок 3.7 Концентрация ИЛ-6 в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

Средний уровень ИЛ-8 в группе 1 (УФБ) составил $7,4 \pm 0,5$ пг/мл (рисунок 3.8). У больных витилиго второй группы (ОТП) значение данного параметра было равно $7,1 \pm 0,6$ пг/мл, в группе 3 (УФБ+ОТП) - $7,3 \pm 0,7$ пг/мл, значимых межгрупповых различий не наблюдалось. При этом во всех группах средний уровень ИЛ-8 значительно превышал $4,1 \pm 1,5$ пг/мл — среднее значение показателя в группе контроля.

После проведенного лечения во всех группах пациентов с витилиго отмечалось снижение концентрации этого цитокина, значения показателя достоверно снизились в группах 2 и 3 соответственно до $5,5 \pm 0,6$ пг/мл и $5,9 \pm 0,3$ пг/мл. В группе 3 (УФБ+ОТП) уровень ИЛ-8 уменьшился до $3,6 \pm 0,5$ пг/мл, это значение было достоверно ниже как исходного уровня, так и значений в первых двух группах больных витилиго ($p < 0,05$ для обоих сравнений).

Рисунок 3.8 Концентрация ИЛ-8 в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

Средние уровни ИЛ-10 в группах исследования были сопоставимы как до, так и после лечения (рисунок 3.9). В группах 2 (ОТП) и 3 (УФБ+ОТП) концентрация этого цитокина до начала лечения составила соответственно $13,0 \pm 3,5$ и $12,9 \pm 2,6$ пг/мл, в группе 1 (УФБ) - $12,6 \pm 2,8$ пг/мл. Во всех группах средние уровни ИЛ-10 до лечения были достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с соответствующим значением показателя в контрольной группе, которое составило $7,9 \pm 1,3$ пг/мл.

После проведенного лечения во всех группах наблюдалось снижение уровней ИЛ-10, которые практически достигли соответствующего уровня у

обследуемых контрольной группы и составили в первых двух группах $8,0 \pm 1,8$ пг/мл в группе 2 (ОТП) и $9,4 \pm 1,3$ пг/мл в группе 1 (УФБ). В третьей группе (УФБ+ОТП) уровень данного параметра был достоверно ниже, чем в группах 1 и 2 и составил $5,2 \pm 0,4$ пг/мл.

Рисунок 3.9 Концентрация ИЛ-10 в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

Средние значения ФНО-альфа в группах 1 (УФБ), 2 (ОТП) и 3 (УФБ+ОТП) до начала лечения составили $17,8 \pm 2,5$, $17,2 \pm 3,9$ и $17,7 \pm 3,0$ пг/мл, соответственно (рисунок 3.10). Достоверных межгрупповых различий по уровню этого цитокина до лечения выявлено не было ($p > 0,05$), при этом во всех группах средняя величина данного показателя существенно превышала концентрацию ФНО- α в сыворотке обследуемых контрольной группы ($9,1 \pm 2,1$ пг/мл).

После проведенного лечения уровень ФНО-альфа статистически значимо снизился ($p < 0,05$) у пациентов всех групп, составив в группах 2 (ОТП) и 1 (УФБ) $10,3 \pm 1,1$ пг/мл и $12,7 \pm 2,1$ пг/мл, приблизившись к средней величине показателя в контрольной группе. В группе 3 (УФБ+ОТП) уровень данного цитокина уменьшился до $8,5 \pm 1,2$ пг/мл, значение этого показателя было достоверно меньше ($p < 0,05$), чем в первых двух группах и достоверно не отличалось от такового в контрольной группе.

Рисунок 3.10 Концентрация ФНО-альфа в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

3.4 Динамика сосудистого эндотелиального фактора роста у больных витилиго при использовании различных подходов к лечению

У пациентов всех групп также оценивали уровень сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в сыворотке крови (рисунок 3.11). Исходные концентрации этого фактора до начала лечения в группах исследования были сопоставимы: $186,2 \pm 21,3$ пг/мл в группе 1 (УФБ), $192,3 \pm 17,9$ пг/мл - в группе 2 (ОТП) и $191,8 \pm 20,1$ пг/мл в третьей группе (УФБ+ОТП), значимых межгрупповых различий выявлено не было ($p > 0,05$). При этом во всех группах среднее значение уровня VEGF было значительно повышено по сравнению с таковым в группе контроля — $102,3 \pm 18,4$ пг/мл.

После проведенного лечения у больных витилиго во всех трех группах отмечено достоверное уменьшение ($p < 0,05$) значений этого показателя. Так, в группе 2 (ОТП) отмечалась статистически значимая положительная динамика в виде снижения уровня VEGF до $119,2 \pm 15,0$ пг/мл, в группе 1 (УФБ) - также было отмечено достоверное снижение среднего значения этого фактора до $126,9 \pm 18,2$ пг/мл.

Наиболее выраженным было снижение концентрации сосудистого эндотелиального фактора в сыворотке пациентов третьей группы - до $93,5 \pm 9,2$ пг/мл, уровень этого показателя был значимо ниже, чем в первых двух группах ($p < 0,05$).

Также стоит отметить, что несмотря на значимое снижение уровня VEGF в группах исследования, соответствующие значения данного показателя оставались повышенными по сравнению со средней величиной VEGF в контрольной группе.

Рисунок 3.11 Концентрация сосудистого эндотелиального фактора в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

3.5 Изменения уровня меланина при использовании различных подходов к лечению витилиго

На следующем этапе исследования проводился анализ результатов оценки уровней меланина в очагах поражения в динамике до начала и после проведенного лечения, результаты представлены на рисунках 3.12 и 3.13.

Установлено, что в очагах поражения на лице и шее больных витилиго до начала лечения средние уровни меланина составляли 105 ± 4 Ед в группе 1 (УФБ), 103 ± 9 Ед в группе 2 (ОТП) и 106 ± 8 Ед у пациентов группы 3 (УФБ+ОТП) (рисунок 3.12). Значения данного показателя до начала лечения были сопоставимы в группах исследования ($p > 0,05$) и значительно снижены относительно средних уровней меланина в неизменной коже соответствующих областей, где значение данного показателя составило 234 ± 10 Ед.

После проведенного лечения во всех группах отмечалась статистически значимая положительная динамика в виде достоверного прироста ($p < 0,05$) средних уровней меланина в очагах поражения. При этом значение содержания пигмента у пациентов групп 1 и 2 после проведенной терапии существенно не различались и составили 208 ± 12 и 217 ± 14 Ед. В группе 3 (УФБ+ОТП) уровень меланина возрос до 248 ± 12 Ед., значение показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) соответствующих уровней в группах 1 и 2 и не отличалось от уровня контроля.

Рисунок 3.12 Уровни меланина (ед.) в очагах поражения на лице и шее до и после лечения в группах больных витилиго

Аналогичная динамика уровней меланина кожи была выявлена при анализе результатов оценки содержания пигмента в очагах поражения витилиго, расположенных в области груди и живота (рисунок 3.13). Так, средний уровень меланина в неизменной коже груди и живота составлял 226 ± 8 Ед, в то время как в очагах поражения витилиго средний уровень меланина был значительно снижен в группах 1, 2 и 3, составив,

соответственно 95 ± 7 , 92 ± 5 и 94 ± 7 Ед. Группы исследования были сопоставимы по средним значениям показателя до начала терапии.

После лечения у пациентов всех групп наблюдалось достоверное повышение средних уровней меланина в очагах поражения. Значения показателя при этом составили в группе 1 (УФБ) - 196 ± 15 Ед, в группе 2 - 205 ± 17 Ед, тогда как в третьей группе (УФБ+ОТП) уровень пигмента составил 237 ± 12 Ед и был достоверно выше ($p<0,05$) соответствующих значений в остальных группах, но при этом не отличался от контроля.

Рисунок 3.13 Уровни меланина (ед.) в очагах поражения на груди и животе до и после лечения в группах больных витилиго

3.6 Качество жизни больных витилиго при использовании различных подходов к лечению

Заключительный этап исследования был посвящен анализу динамики уровня качества жизни пациентов с витилиго, оцененного с применением опросника «Дерматологический индекс качества жизни». Результаты представлены на рисунке 3.14. До начала терапии средние оценки ДИКЖ в группах исследования были сопоставимы и составляли $9,2\pm 2,6$, $8,7\pm 2,0$ и $8,9\pm 1,9$ балла в группах 1 (УФБ), 2 (ОТП) и 3 (УФБ+ОТП) соответственно. Показатели ДИКЖ во всех группах были значительно выше контрольного уровня, что свидетельствовало о существенном снижении качества жизни обследованных пациентов.

После проведенного лечения в течение 6 месяцев наблюдалось уменьшение показателя ДИКЖ, при этом в группе 3 (УФБ+ОТП) динамика была более выраженной. В этой группе среднее значение показателя ДИКЖ составило $5,1\pm 0,8$ балла, что было значимо ($p<0,05$) ниже, чем у пациентов

группы 1 (УФБ), где этот показатель снизился только до $7,6 \pm 2,3$ балла, и в группе 2 (ОТП), где уровень ДИКЖ составил $7,2 \pm 1,7$ балла.

При сравнении через 1 год после начала терапии было отмечено дальнейшее снижение значения ДИКЖ во всех группах пациентов, что свидетельствовало об улучшении качества жизни больных витилиго. При этом средние уровни данного параметра в группах 2 (ОТП) и 1 (УФБ) были сопоставимы и составляли $3,9 \pm 0,3$ балла и $4,1 \pm 0,9$ балла, соответственно. В то же время у пациентов группы 3 (УФБ+ОТП) значение показателя снизилось до $2,5 \pm 0,4$ балла. В первых двух группах средние показатели ДИКЖ оставались повышенными по сравнению с контрольными значениями, в то же время динамика показателя во всех группах была статистически значимой ($p < 0,05$) относительно исходных уровней оценки качества жизни больных витилиго.

Рисунок 3.14 Динамика показателя ДИКЖ после курса лечения витилиго

В целом проведенные исследования свидетельствовали о том, что включение в комплекс лечения больных витилиго УФБ и обогащенной тромбоцитами плазмы сопровождается выраженным улучшением качества жизни данной категории пациентов.

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ

Клинический пример 1

Пациент П., 33 года. Курс лечения составил 6 процедур введения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и 30 процедур фототерапии УФБ-311нм (курсовая доза 82,4 Дж/см²). Побочных эффектов не отмечалось. После проведенного курса лечения наблюдался выраженный положительный эффект: диффузная и точечная репигментация в центре и периферии очагов, площадь очагов уменьшилась на 51-99%.

Диагноз: Ограниченное витилиго. Стабильная стадия. Вид очагов поражения представлен на рисунке 3.15.



A



Б



В



Г

Рисунок 3.15 Вид очагов поражения до (А, Б) и через 4 мес (В, Г) после начала курса комбинированной терапии

Клинический пример 2.

Пациентка К., 37 лет.

Курс лечения составил 7 процедур введения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и 28 процедур фототерапии УФБ-311нм (курсовая доза 78,3 Дж/см²). Побочных эффектов не отмечалось. После проведенного курса лечения наблюдался выраженный положительный эффект: диффузная и точечная репигментация в центре и периферии очагов, площадь очагов уменьшилась на 51-99%.

Диагноз: Распространенное витилиго. Стабильная стадия.

Очаги поражения представлены на рисунке 3.16.

**А****Б**

Рисунок 3.16 Вид очагов поражения до (А) и через 6 мес (Б) после начала курса комбинированной терапии

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Витилиго представляет собой приобретенное расстройство пигментации, в основе развития которого лежит потеря эпидермальных меланоцитов. Клинически заболевание проявляется депигментированными пятнами. Болезнь поражает 0,5 -1% в общей популяции населения [Alikhan A. et al., 2011]. Витилиго существенно влияет на качество жизни больных, особенно в тех случаях, когда поражение затрагивает косметически значимые участки кожи, например, лицо и конечности [Kota R.S. et al., 2019; Chan M.F. et al, 2013].

В настоящее время применяются различные методы лечения, однако во многих случаях результаты их использования остаются неудовлетворительными, необходимо использование длительных курсов лечения. Проблема осложняется многофакторным характером патогенеза заболевания [Eleftheriadou V. et al., 2011; Liang L. et al., 2019].

С 90-х гг. XX в. в лечении витилиго применяется узкополосная ультрафиолетовая фототерапия, был проведен ряд исследований, подтверждающих эффективность этого метода терапии [Westerhof W., Nieweboer-Krobotova L., 1997; Taieb A. et al., 2013; Nicolaidou E. et al., 2009]. Однако, в отношении поражений отдельных локализаций, в частности, на коленях и локтях, фототерапия может быть неэффективной [Felsten L.M. et al., 2011].

В последние годы внимание исследователей привлекает возможность применения обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении витилиго. ОТП фактически является аутологичным препаратом, содержащим также факторы роста, которые регулируют ряд иммунологических процессов: клеточную миграцию, адгезию, пролиферацию и дифференцировку [Garg S. et al., 2019; Wrotniak M. et al., 2007].

Следует отметить, что работы, посвященные оценке возможностей применения ОТП как метода терапии витилиго, в отечественной литературе

отсутствуют, имеются лишь единичные противоречивые сообщения отдельных авторов. Lim H. et al (2011) была предпринята одна из первых попыток применения ОТП в лечении витилиго. Авторами было проведено лечение 20 пациентов с витилиго с помощью 10 внутрикожных инъекций ОТП с недельным интервалом. Однако, авторы сочли такой подход неэффективным в лечении витилиго.

Целью нашего исследования явилась разработка метода применения обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении ограниченных форм витилиго с учетом цитокинового статуса.

В работу было включено 96 больных витилиго в возрасте от 20 до 59 лет, средний возраст $38,5 \pm 17,3$ года, с длительностью заболевания от 6 месяцев до 22 лет. Пациенты были включены в 3 группы:

- группа 1 (УФБ) - 36 больных витилиго, в лечении которых использовались стандартные подходы к терапии заболевания, при этом было использовано ультрафиолетовое излучение;

- группа 2 (ОТП) - 32 пациента, в лечении которых применялись инъекции обогащенной тромбоцитами плазмы;

- группа 3 (УФБ+ОТП) - 28 пациентов, которым проводилась комплексная терапия с использованием инъекций ОТП, а также ультрафиолетовое облучение.

Сегментарная форма заболевания была диагностирована в группе 1 (УФБ) - у 18 (50 %) больных, в группе 2 (ОТП) - у 17 (53,1 %) пациентов, в третьей группе (УФБ+ОТП) - в 13 случаях (46,4%). Несегментарная форма болезни, в частности, фокальная, наблюдалась в группе 1 (УФБ) в 3 (8,3 %) случаях, в группе 2 (ОТП) - у 2 (6,3 %) пациентов, в группе 3 (УФБ+ОТП) - у 3 пациентов (10,7%).

Вульгарная форма витилиго была отмечена в первой группе - в 5 (13,9 %) случаях, во второй группе - у 3 (9,4 %) пациентов, в третьей - у 4 больных (14,3 %).

Акрофациальная форма витилиго в двух первых группах была выявлена в 9 случаях, что составило 25,0 % в группе 1 (УФБ) и 28,1 % в группе 2 (ОТП). В группе 3 (УФБ+ОТП) эта форма заболевания была отмечена у 7 больных (25,0 %).

Отмечено также по 1 случаю универсальной формы заболевания, что составило в группе 1 (УФБ) 2,8 %, в группе 2 (ОТП) - 3,1 %, в группе 3 (УФБ+ОТП) - 3,6 %.

Длительность витилиго менее 5 лет отмечена в группе 1 (УФБ) у 16 (44,5 %) больных, в группе 2 (ОТП) - у 14 (43,8 %) пациентов, в группе 3 (УФБ+ОТП) - в 10 случаях (35,7 %), значимых межгрупповых различий при этом отмечено не было. Длительность заболевания 6-10 лет была установлена у 9 (25,0 %) больных группы 1 (УФБ), а в группе 2 (ОТП) - у 7 (21,9 %) пациентов и у 8 (28,6 %) больных третьей группы.

Заболевание длилось в течение 11-20 лет у 8 пациентов группы 1 (УФБ) (22,2 %), в 9 случаях (28,1 %) в группе 2 (ОТП) и у такого же количества больных группы 3 (УФБ+ОТП), что составило 32,1 %. Минимальной была доля больных с длительностью болезни свыше 20 лет - у 3 (8,3 %) больных группы 1 (УФБ), у 2 (6,2 %) пациентов группы 2 (ОТП) и в одном случае (3,6 %) в третьей группе.

В качестве наиболее частой области локализации процесса было отмечено туловище - примерно у трети больных каждой группы - в 21,3-33,3 % случаев.

Голова и шея были поражены в группе 1 (УФБ) у 8 (22,2 %) больных, в группе 2 (ОТП) - у 9 (28,1 %) пациентов, в группе 3 (УФБ+ОТП) - в 8 случаях (28,6 %). Процесс локализовался преимущественно на верхних конечностях у 9 пациентов (25,0 %) первой группы, у 6 больных второй и третьей групп, что составило соответственно 18,7 и 21,4 %. Очаги витилиго преимущественно на нижних конечностях были отмечены в группе 1 (УФБ) у 7 (19,5 %) больных, в группе 2 (ОТП) - также у 7 (21,9 %) пациентов, в группе 3 - у 5 (17,9 %) больных.

Терапия ОТП в настоящем исследовании показала эффективность, превосходящую таковую, наблюдаемую при использовании стандартных методик лечения витилиго, и позволяет достигнуть ответа на лечение от умеренного до полного эффекта в 87,5% случаев. Кроме того, частота достижения ответа на лечение от выраженного эффекта до полного разрешения клинических проявлений в группе 3 (УФБ+ОТП) была выше по сравнению с группами 1 и 2, однако статистическая значимость межгрупповых различий по частоте достижения ответа на лечения не подтвердилась ($p > 0,05$ для всех сравнений).

Изучение динамики уровней цитокинов у больных витилиго при использовании различных подходов к лечению показало, что до лечения средние уровни ИЛ-1 в группах 1, 2, 3 составили $5,9 \pm 0,9$ пг/мл, $6,2 \pm 1,1$ и $6,1 \pm 1,4$ пг/мл, соответственно. Таким образом, значения данного показателя до лечения в группах исследования были сопоставимы между собой ($p > 0,05$), однако превышали средний уровень ИЛ-1 в сыворотке крови обследуемых контрольной группы ($2,8 \pm 0,4$ пг/мл).

После проведенной терапии во всех группах отмечалось снижение средних уровней ИЛ-1 — до $4,4 \pm 0,4$ пг/мл в группе 2 (ОТП), до $4,9 \pm 0,6$ пг/мл в группе 1 (УФБ) и до $3,2 \pm 0,6$ пг/мл в группе 3 (УФБ+ОТП). В первых двух группах показатели после лечения превышали таковые в группе лиц контрольной группы, однако в группе 3 уровень этого цитокина был достоверно ниже, чем в группах 1 и 2 ($p < 0,05$). При этом значение данного показателя у пациентов группы 3 (УФБ+ОТП) достоверно не отличалось от контрольного уровня.

Кроме того, динамика уровня ИЛ-1 в первой группе была статистически недостоверной ($p > 0,05$), в то время как в группах 2 и 3 после проведенного курса терапии отмечалось статистически значимое снижение уровня ИЛ-1 по сравнению с исходным значением данного показателя в группе до лечения ($p < 0,05$).

Средние значения показателя ИЛ-6 до лечения были равны $5,9 \pm 0,8$ пг/мл в группе 1 (УФБ), $5,8 \pm 0,5$ пг/мл в группе 2 (ОТП) и $6,1 \pm 1,3$ - у пациентов группы 3 (УФБ+ОТП). Уровни данного цитокина в группах до лечения значимо не различались ($p > 0,05$), несколько превышая при этом средний уровень ИЛ-6 в контрольной группе, который составлял $3,9 \pm 0,8$ пг/мл.

После проведенного лечения уровни ИЛ-6 снизились во всех группах больных витилиго, достигнув средних значений $5,0 \pm 0,3$ пг/мл и $5,2 \pm 0,5$ пг/мл в первых двух группах и до $3,4 \pm 0,2$ пг/мл в группе 3 (УФБ+ОТП). У пациентов первых двух групп значения данного параметра по-прежнему превышали средний уровень ИЛ-6 в контрольной группе, межгрупповые различия концентрации этого цитокина после лечения также не достигли уровня статистической значимости ($p > 0,05$). В то же время у пациентов третьей группы, получавших комбинированное лечение, значение данного показателя составило $3,4 \pm 0,2$ пг/мл и было значимо ниже ($p < 0,05$), чем в других группах.

Средний уровень ИЛ-8 в группе 1 (УФБ) составил $7,4 \pm 0,5$ пг/мл. У больных витилиго второй группы (ОТП) значение данного параметра было равно $7,1 \pm 0,6$ пг/мл, в группе 3 (УФБ+ОТП) - $7,3 \pm 0,7$ пг/мл, значимых межгрупповых различий не наблюдалось. При этом во всех группах средний уровень ИЛ-8 значительно превышал соответствующее значение в группе контроля - $4,1 \pm 1,5$ пг/мл.

После проведенного лечения во всех группах пациентов с витилиго отмечалось снижение концентрации этого цитокина, значения показателя достоверно снизились в группах 2 и 3 соответственно до $5,5 \pm 0,6$ пг/мл и $5,9 \pm 0,3$ пг/мл. В группе 3 (УФБ+ОТП) уровень ИЛ-8 уменьшился до $3,6 \pm 0,5$ пг/мл, это значение было достоверно ниже как исходного уровня, так и значений в первых двух группах больных витилиго ($p < 0,05$ для обоих сравнений).

Средние уровни ИЛ-10 в группах исследования были сопоставимы как до, так и после лечения. В группах 2 (ОТП) и 3 (УФБ+ОТП) концентрация этого цитокина до начала лечения составила соответственно $13,0 \pm 3,5$ и $12,9 \pm 2,6$ пг/мл, в группе 1 (УФБ) - $12,6 \pm 2,8$ пг/мл. Во всех группах средние уровни ИЛ-10 до лечения были достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с соответствующим значением показателя в контрольной группе, которое составило $7,9 \pm 1,3$ пг/мл.

После проведенного лечения во всех группах наблюдалось снижение уровней ИЛ-10, которые практически достигли соответствующего уровня у обследуемых контрольной группы и составили в первых двух группах $8,0 \pm 1,8$ пг/мл в группе 2 (ОТП) и $9,4 \pm 1,3$ пг/мл в группе 1 (УФБ). В третьей группе (УФБ+ОТП) уровень данного параметра был достоверно ниже, чем в группах 1 и 2 и составил $5,2 \pm 0,4$ пг/мл.

Средние значения ФНО-альфа в группах 1 (УФБ), 2 (ОТП) и 3 (УФБ+ОТП) до начала лечения составили $17,8 \pm 2,5$, $17,2 \pm 3,9$ и $17,7 \pm 3,0$ пг/мл, соответственно. Достоверных межгрупповых различий по уровню этого цитокина до лечения выявлено не было ($p > 0,05$), при этом во всех группах значение данного показателя существенно превышало концентрацию ФНО- α в сыворотке обследуемых контрольной группы ($9,1 \pm 2,1$ пг/мл).

После проведенного лечения концентрация ФНО-альфа статистически значимо снизилась ($p < 0,05$) у пациентов всех групп, составив в группах 2 (ОТП) и 1 (УФБ) $10,3 \pm 1,1$ пг/мл и $12,7 \pm 2,1$ пг/мл, приблизившись к средней величине показателя в контрольной группе. В группе 3 (УФБ+ОТП) уровень данного цитокина уменьшился до $8,5 \pm 1,2$ пг/мл, значение этого показателя было достоверно меньше ($p < 0,05$), чем в первых двух группах и достоверно не отличалось от такового в контрольной группе.

Предполагают, что при витилиго механизм действия ОТП затрагивает кератиноциты и фибробласты, что приводит к улучшению их взаимодействия с меланоцитами, обеспечивая стабилизацию последних. Было установлено,

что ОТП обладает противовоспалительным эффектом, который выражается в подавлении высвобождения цитокинов - интерлейкина-1, интерферона и фактора некроза опухоли-альфа, которые, как известно, играют важнейшую роль в патогенезе витилиго [Choi C.P. et al., 2007; Dey-Rao R., Sinha A.A., 2016].

Анализ динамики сосудистого эндотелиального фактора роста у больных витилиго при использовании различных подходов к лечению заболевания показал, что исходные уровни VEGF до начала лечения в группах исследования были сопоставимы. После проведенного лечения в больных витилиго во всех трех группах отмечено достоверное уменьшение ($p < 0,05$) значений этого показателя. Так, в группе 2 (ОТП) отмечалась статистически значимая положительная динамика в виде снижения уровня VEGF до $119,2 \pm 15,0$ пг/мл, в группе 1 (УФБ) также было отмечено достоверное снижение среднего значения этого фактора до $126,9 \pm 18,2$ пг/мл.

Наиболее выраженным было снижение концентрации сосудистого эндотелиального фактора в сыворотке пациентов третьей группы - до $93,5 \pm 9,2$ пг/мл, уровень этого показателя был значимо ниже, чем в первых двух группах ($p < 0,05$).

Также стоит отметить, что несмотря на значимое снижение уровня VEGF в обеих группах исследования, соответствующие значения данного показателя оставались повышенными по сравнению со средней величиной VEGF в контрольной группе.

В ряде исследований показано, что механизм лечебного действия ОТП реализуется за счет содержащихся в ней факторов роста, что проявляется, в частности, омоложением кожи в ходе их стимулирующего действия на пролиферацию коллагена, фибробластов и кератиноцитов [Kim W.S. et al., 2009; Karimirpour D.J. et al., 2009; Redaelli A. et al., 2010].

Факторы роста (фактор роста тромбоцитов и трансформирующий фактор роста-бета) связываются с трансмембранными рецепторами клеток-мишеней (например, мезенхимальных стволовых клеток, остеобластов,

фибробластов, эндотелиальных и эпидермальных клеток), активируя внутриклеточные сигнальные белки. Это в свою очередь вызывает экспрессию генов, приводящую либо к клеточной пролиферации и новому формированию коллагеновой матрицы, либо к пролиферации эпидермальных клеток [Mei-Dan O. et al., 2010; Eppley V.L. et al., 2006].

Оценка уровня меланина при использовании различных подходов к лечению витилиго продемонстрировала, что до начала лечения средние уровни меланина составляли 105 ± 4 Ед в группе 1 (УФБ), 103 ± 9 Ед в группе 2 (ОТП) и 106 ± 8 Ед у пациентов группы 3 (УФБ+ОТП). Средние значения данного показателя до начала лечения были сопоставимы в группах исследования ($p > 0,05$) и значительно снижены относительно средних уровней меланина в неизменной коже соответствующих областей, где значение данного показателя составило 234 ± 10 Ед.

После проведенного лечения во всех группах отмечалась статистически значимая положительная динамика в виде достоверного прироста ($p < 0,05$) средних уровней меланина в очагах поражения. При этом значение содержания пигмента у пациентов групп 1 и 2 после проведенной терапии существенно не различались и составили 208 ± 12 и 217 ± 14 Ед. В группе 3 (УФБ+ОТП) уровень меланина возрос до 248 ± 12 Ед, значение показателя было достоверно выше ($p < 0,05$) соответствующих уровней в группах 1 и 2 и не отличалось от уровня контроля.

Аналогичная динамика уровней меланина кожи была выявлена при анализе результатов оценки содержания пигмента в очагах поражения витилиго, расположенных в области груди и живота. Так, средний уровень меланина в неизменной коже груди и живота составлял 226 ± 8 Ед, в то время как в очагах поражения витилиго значение этого показателя было снижено в группах 1, 2 и 3, соответственно до 95 ± 7 , 92 ± 5 и 94 ± 7 Ед. Группы исследования были сопоставимы по средним значениям показателя до начала терапии.

После лечения у пациентов всех групп наблюдалось достоверное повышение средних уровней меланина в очагах поражения. Значения показателя при этом составили в группе 1 (УФБ) - 196 ± 15 Ед, в группе 2 - 205 ± 17 Ед, тогда как в третьей группе (УФБ+ОТП) уровень пигмента составил 237 ± 12 Ед и был достоверно выше ($p < 0,05$) соответствующих значений в остальных группах, но при этом не отличался от контроля.

Изучение качества жизни пациентов с витилиго с применением ДИКЖ показало, что в исходный срок значения этого показателя в группах исследования были сопоставимы и при этом значительно превышали контрольный уровень, что свидетельствовало о снижении качества жизни обследованных пациентов.

После проведенного лечения в течение 6 месяцев отмечалось снижение показателей ДИКЖ, при этом в группе 3 (УФБ+ОТП) динамика была более выраженной. У этих пациентов среднее значение показателя ДИКЖ составило $5,1 \pm 0,8$ балла, что было значимо ($p < 0,05$) ниже, чем у пациентов группы 1 (УФБ), где среднее значение этого показателя снизилось только до $7,6 \pm 2,3$ балла, и в группе 2 (ОТП), где уровни показателя составили $7,2 \pm 1,7$ балла.

При сравнении через 1 год после начала терапии было отмечено дальнейшее снижение значения ДИКЖ во всех группах пациентов, что свидетельствовало об улучшении качества жизни больных витилиго. При этом средние уровни данного параметра в группах 2 (ОТП) и 1 (УФБ) были сопоставимы и составляли $3,9 \pm 0,3$ балла и $4,1 \pm 0,9$ балла, соответственно. В то же время у пациентов группы 3 (УФБ+ОТП) значение показателя снизилось до $2,5 \pm 0,4$ балла. В первых двух группах средние показатели ДИКЖ оставались повышенными по сравнению с контрольными значениями, в то же время динамика показателя во всех группах была статистически значимой ($p < 0,05$) относительно исходных уровней оценки качества жизни больных витилиго.

В полной мере механизм действия ОТП при витилиго до сих пор неизвестен. Abdelghani R. et al. (2017) предполагают, что положительный эффект ОТП при витилиго обусловлен действием факторов роста, в частности, тромбоцитарного фактора роста, факторов роста эпидермиса, фактора роста фибробластов, а также матриксной металлопротеиназы-2, которые связываются с трансмембранными рецепторами клеток-мишеней, что приводит к активации внутриклеточных сигнальных белков и экспрессии последовательности генов, в итоге - к запуску клеточной пролиферации, обновлению коллагена и пролиферации эпидермальных клеток [Mei-Dan O. et al., 2010; Eppley B. et al., 2006].

Ibrahim Z.A. et al. (2016) считают, что ОТП в комбинации с другими методами лечения может использоваться не только для лечения локализованных форм витилиго, но, в отличие от клеточной терапии, может применяться и при распространенных формах заболевания.

Полагают, что, поскольку в патогенезе витилиго участвуют наряду с меланоцитами также кератиноциты и фибробласты [Kaush J.F. et al., 2011], при этом заболевании развивается дефицит ряда факторов роста, стимулирующих роста фибробластов и кератиноцитов. Эти сдвиги могут, в свою очередь выступать в качестве причины ослабления адгезии меланоцитов, что способствует их трансэпидермальной элиминации и хроническому отторжению - «меланоцитотрагии» [Ortonne J., 2008]. Было обнаружено, что введение ОТП индуцирует пролиферацию и миграцию фибробластов путем повышения активности циклина E и фактора CDK4, играющих важную роль в процессах миграции и пролиферации клеток [Cho J.W. et al., 2012].

Считают, что эффект ОТП при репигментации, обусловлен также стимулированием ангиогенными факторами пролиферации и дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в меланоциты, хотя эта гипотеза нуждается в дальнейшем подтверждении [Kaush J.F. et al., 2011].

В исследованиях *in vitro* было продемонстрировано увеличение продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 моноцитами больных с активным витилиго. Считают, что эти изменения играют важную роль в миграции эффекторных клеток и вызывать активацию В-клеток [Lucarelli E. et al., 2010]. Более того, Т-хелперные клетки секретируют ИЛ-17, которые взаимодействуют с этими локальными воспалительными медиаторами, вызывая дальнейшее ингибирование пролиферации меланоцитов [Anitua E. et al., 2009].

Huang C.L. et al. (2002) выдвинута гипотеза апоптоза при витилиго, в рамках которой авторы предположили, что такие цитокины, как ИЛ-1, ИФН-С или ФНО-альфа, высвобождаемые лимфоцитами, кератиноцитами и меланоцитами, могут инициировать апоптоз. В то же время сосудистые факторы роста, содержащиеся в ОТП, подавляя продукцию цитокинов, ограничивают воспаление, а также апоптоз меланоцитов [Bernuzzi G. et al., 2010].

Таким образом, в настоящее время на основании немногочисленных, преимущественно косвенных данных, предполагают, что механизмы лечебного действия ОТП, способствующие репигментации, реализуются за счет стимулирования пролиферации и взаимодействия как кератиноцитов, так и фибробластов с меланоцитами. При этом усиливается аттрактивный эффект и стимуляция недифференцированных стволовых клеток. Противовоспалительное действие ОТП ограничивает выделение цитокинов и снижает интенсивность апоптоза меланоцитов. ОТП улучшает среду для роста меланоцитов, действуя на кератиноциты, в то время как фототерапия стимулирует меланогенез и подавляет иммунореактивность. В итоге, вероятно, синергизм всех вышеперечисленных механизмов значительно повышает эффективность используемых методов и улучшает результаты лечения витилиго.

Результаты нашего исследования согласуются с данными других авторов и свидетельствуют, что применение аутологичных интрадермальных

инъекций ОТП может рассматриваться в качестве эффективного альтернативного метода лечения витилиго. Данный подход является безопасным, поскольку применяется именно аутологичная плазма, характеризующаяся минимальным побочным действием и отсутствием риска инфицирования. Безусловно, для подтверждения этих положений, необходимо проведение дальнейших широкомасштабных клинических исследований.

ВЫВОДЫ

1. Комплексное лечение витилиго с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы является клинически эффективным и безопасным, поскольку его применение позволяет получить клиническую ремиссию у 88,9 % пациентов. Оценка отдаленных результатов свидетельствует о стойкой, сохраняющейся в течение года после окончания лечения репигментации очагов поражения.

1. Лечение витилиго с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы и ультрафиолетового излучения является патогенетически обоснованным, вызывает у больных нормализацию уровней провоспалительных цитокинов в плазме крови наряду с повышением уровня эндотелиального фактора роста сосудов.

1. Отсутствие нежелательных явлений, связанных с предложенным методом лечения витилиго, свидетельствует, что применение обогащенной тромбоцитами плазмы является безопасным, не сопровождается побочными действиями, аллергическими и токсическими реакциями.

1. Включение применения обогащенной тромбоцитами плазмы в комплекс лечения больных витилиго приводит к повышению содержания уровня меланина в 2,1-2,3 раза в очагах заболевания, что клинически проявляется репигментацией пораженных участков кожи.

1. Использование разработанного подхода к лечению витилиго приводит к выраженному улучшению качества жизни пациентов, о чем свидетельствует достоверное изменение значения дерматологического

индекса качества жизни в отдаленном периоде (через 1 год) после окончания лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- При выработке тактики лечения витилиго целесообразной является оценка цитокинового профиля пациентов с определением спектра интерлейкинов 6, 8, фактора некроза опухоли, а также оценка уровня фактора роста эндотелия сосудов.
- Лечение пациентов с витилиго с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы рекомендуется проводить по использованной в работе схеме применения метода.
- Противопоказаниями к использованию обогащенной тромбоцитами плазмы в комплексе лечения витилиго являются: злокачественные новообразования, диспластические и множественные врожденные пигментные невусы, наличие аллергических и аутоиммунных заболеваний, беременность и период лактации, заболевания печени и почек, сопровождающиеся выраженной функциональной недостаточностью, заболевания сердечно-сосудистой системы в стадии декомпенсации.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТ - антитела

АФК - активные формы кислорода

ДИКЖ - дерматологический индекс качества жизни

ИЛ - интерлейкин

ИФА - иммуноферментный анализ

МБЭГ - 4-tert-аминофенол (4-ТАФ) монобензиловый эфир
гидрохинона

ОТП - обогащенная тромбоцитами плазма

ПОМК – проопиомеланокортин

РКИ - рандомизированное клиническое исследование

СОД - супероксиддисмутаза

УФ - ультрафиолетовое (излучение)

ФНО - фактор некроза опухоли

ЭПЕ – эпидермальная пролиферативная единица

СХС - хемокины

EGF - эпидермальный фактор роста

FGF - фактор роста фибробластов

HSP - белки теплового шока

IGF - инсулиноподобный фактор роста

TGF- β - трансформирующий фактор роста бета

VEGF - сосудистый эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адаскевич В.П., Разнатовский К.И., Ключарёва С.В. и др. Мультицентровое исследование эффективности комбинированной терапии пациентов с витилиго (узкополосная фототерапия в сочетании с местным антиоксидантом Витискин) // Клиническая дерматология и венерология. – 2015. – Т. 14, № 5. – С. 51-57.
2. Айвазян А.А., Липова Е.В., Просяникова Н.В. Морфометрическая оценка эффективности применения обогащенной тромбоцитами плазмы для лечения длительно незаживающих ран кожи // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2014. № 1. – С. 3-5.
3. Бабешко О.А., Ломоносов К.М., Гилядова Н.И. Роль цитокинов в патогенезе витилиго // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2012. – № 3. – С. 37-41.
4. Батпенова Г.Р., Аймолдина А.А., Котлярова Т.В. и др. Значение оксидативного стресса и иммунологических расстройств при витилиго // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2014. – № 4. – С. 10-14.
5. Болдырева О.В., Вахрушев С.Г., Торопова Л.А. Эффективность применения плазмы, обогащенной тромбоцитами, при лечении хронического атрофического фарингита // Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 9. – С. 31-34.
6. Васильченко Т.С., Габдракипова А.А., Белянская И.А. Этиопатогенез и диагностика витилиго // Синергия Наук. - 2019. - № 31. - С. 1434-1437.
7. Герейханова Л.Г., Ломоносов К.М., Башлакова К.А. Окислительный стресс в патогенезе витилиго и методы его коррекции // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2016. – Т. 19, № 1. – С. 45-48.

8. Герейханова Л.Г., Ломоносов К.М. Опыт применения кислородно-озоновой смеси в лечении витилиго // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2017. Т.20, № 2. - С. 84.
9. Горбатенко А.И., Костяная Н.О. Применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в комплексной терапии остеоартроза коленных суставов // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова – 2016. – № 2. – С. 40-45.
10. Даниелян Э.Е., Кцоян Л.А., Адилхаян А.Ю. Иммунные и нейрогенные аспекты патогенеза витилиго // Вестник дерматологии и венерологии. – 2007. – № 3. – С. 14-18.
11. Дворянкова Е.В., Корсунская И.М. Современная классификация и номенклатура витилиго // Дерматология. Приложение к журналу Consilium Medicum. - 2018. - № 2. - С. 5-7.
12. Дейкало В.П., Мастыков А.Н., Болобошко К.Б. Обогащенная тромбоцитами плазма в лечении заболеваний и повреждений опорно-двигательного аппарата // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 6-12.
13. Демкин С.А., Маланин Д.А., Рогова Л.Н., Демещенко М.В. Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава: современное стояние вопроса // Волгоградский научно-медицинский журнал –2013. – № 4. – С. 7-9.
14. Исмаилов Р.Г. Состояние компонентов системы перекисного окисления липидов - антиоксидантной системы у больных витилиго // Мир медицины и биологии. – 2011. – № 4. – С. 89-91.
15. Исмаилов Р.Г. Регуляция меланогенеза при дисхромии кожи // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2014. – № 1-2. – С. 85-92.
16. Карнаухов В.К., Лукьянова А.А., Лукашина М.И. и др. Современные подходы к лечению андрогенетической алопеции // Вестник дерматологии и венерологии. – 2017. – № 1. – С. 21-30.
17. Каюмова Л.Н., Ханбабян А.Б., Брускин С.А. и др. Генетические и

эпигенетические факторы развития некоторых иммунозависимых дерматозов // Доктор.ру. – 2013. – № 4. – С. 40-46.

18. Крайник И.В., Ремизов А.С., Сонькин И.Н. и др. Обогащенная тромбоцитами плазма в лечении трофических язв // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2014. – Т. 15, № 1. – С. 83.

19. Кривоконева А.И. Эффективность терапии витилиго ультрафиолетовым излучением // Вестник современных исследований. - 2018. - № 4.2 (19). - С. 55-56.

20. Кубанов А.А., Абрамова Т.В., Мураховская Е.К. Методы фототерапии в лечении дерматозов // Фарматека. – 2017. – № S1. – С. 12-17.

21. Кубанова А.А., Волнухин В.А., Прошутинская Д.В. и др. Возможности регенеративной медицины в лечении больных витилиго // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 3. – С. 43-52.

22. Ломоносов К.М. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при различных заболеваниях кожи // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2009. – № 2. – С. 27-30.

23. Ломоносов К.М., Герейханова Л.Г. Алгоритм лечения витилиго // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2016. - Т. 19, №3. - С.167-169.

24. Ломоносов К.М., Рем М.А., Горб В.А. История экспериментального изучения витилиго // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2017. - Т.20, № 6. - С.378-380.

25. Лысенко В.И., Горностаева М.Е., Корсунская И.М. Комплексная терапия витилиго // Эффективная фармакотерапия. – 2011. – № 10. – С. 12-14.

26. Лысенко В.И., Корсунская И.М. Антиоксиданты в лечении витилиго // Врач. – 2012. – № 9. – С. 85-87.

27. Маланин Д.А., Демкин С.А., Демещенко М.В., Байдова К.В. Обогащенная тромбоцитами аутологичная плазма в лечении пациентов с остеоартрозом коленного сустава II стадии // Гений ортопедии. – 2017. – Т. 23, № 1. – С. 45-51.

28. Мареева А.Н., Кондрахина И.Н., Абуладзе М.Г. Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении нерубцовых облысений (андрогенетической, гнездной алопеции) // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – № 3. – С. 62-66.

29. Махнева Н.В., Чистякова Т.В., Спицина Е.Г. К вопросу о лечении витилиго // Международный журнал экспериментального образования. – 2012. – № 7. – С. 83.

30. Мерабан Ш., Фэйли А. Потенциал эксимерного лазера с длиной волны 308 нм // Аппаратная косметология. – 2015. – № 4. – С. 22-25.

31. Носков С.М., Широкова Л.Ю., Абросимова Е.Б., Майорова С.М. Обогащенная тромбоцитами плазма в терапии периартритов плечелопаточной области // Клиническая геронтология. – 2010. – Т. 16, № 9-10. – С. 57.

32. Оболенский В.Н. Хроническая рана: обзор современных методов лечения // Российский медицинский журнал. – 2013. – Т. 21, № 5. – С. 282-289.

33. Оболенский В.Н., Ермолова Д.А. Применение тромбоцитарных факторов роста и коллагеновых биопрепаратов в лечении больных с хроническими трофическими язвами различной этиологии // Хирургия. Журнал. им. Н. И. Пирогова. – 2012. – № 5. – С. 42-47.

34. Олисова О.Ю., Кочергин Н.Г., Мураховская Е.К. и др. Такролимус в терапии различных дерматозов // Российский аллергологический журнал. – 2013. – № 5. – С. 57-61.

35. Олисова О.Ю., Владимиров В.В., Лукашева Н.Н. и др. Отдаленные результаты пува-терапии дерматозов (обзор литературы) // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2005. – № 1. – С. 30-32.

36. Олисова О.Ю., Богадельникова А.Г., Микрюков А.В., Верхотурова Е.Г. УФБ-излучение узкого спектра 311 нм в лечении кожных заболеваний (обзор) // Российский журнал кожных и венерических болезней.

- 2007. - № 4. - С.38-43.

37. Олисова О.Ю., Гаранян Л.Г., Котельникова Л.А. Современные методы лечения витилиго // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. - 2013. - № 2. - С.30-38.

38. Олисова О.Ю., Пинсон И.Я., Мызина К.А., Гаранян Л.Г. Комбинированный метод фототерапии витилиго // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2017. - Т.20, № 4. - С.238-242.

39. Олисова О.Ю., Авагян Д.В. Терапия рубцов постакне при сочетанном применении абляционного фототермолиза CO₂-лазером и аутологичной обогащённой тромбоцитами плазмы // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2018. - Т. 21, №1. - С. 48-52.

40. Очеленко С.А., Монахов К.Н. Эффективность и безопасность применения ингибиторов кальциневрина (такролимуса) при atopическом дерматите и других заболеваниях кожи // Российский аллергологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 89-95.

41. Пинсон И.Я., Олисова О.Ю., Башлакова К.А. Сравнение клинической эффективности эксимерных лампы и лазера при витилиго: Рандомизированное исследование // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2015. – Т. 18, № 5. – С. 59-62.

42. Пинсон И.Я., Олисова О.Ю., Башлакова К.А., Гэрейханова Л.Г. К вопросу о лечении витилиго // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2016. - Т.19, № 2. - С. 102.

43. Пирожков С.В., Литвицкий П.Ф. Инфламмосомные болезни // Иммунология. - 2018. - Т. 39, № 2-3. - С. 158-165.

44. Потапнев М.П., Кривенко С.И., Богдан В.Г. и др. Плазма крови, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов: Получение, стандартизация, медицинское применение // Здоровоохранение (Минск). - 2018. - № 10. - С. 38-44.

45. Просянкикова Н.В., Липова Е.В., Покровский К.А. Эффективность лечения длительно не заживающих ран и язв кожи методом

аппликационного и инъекционного введения аутологичной, богатой тромбоцитами плазмы // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2012. – № 3. – С. 81-84.

46. Прошутинская Д.В. Состояние меланогенеза и иммунные процессы в коже больных витилиго, оценка эффективности терапии узкоспектральным ультрафиолетовым излучение диапазона 304-313 нм: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2009. – 33 с.

47. Прошутинская Д.В., Волнухин В.А., Жилова М.Б., Борова О.В. Эффективность терапии больных витилиго ультрафиолетовым эксимерным лазером // Вестник дерматологии и венерологии. – 2009. – № 4. – С. 68-73.

48. Прошутинская Д.В., Волнухин В.А., Катунина О.Р., Резайкина А.В. О роли дендритных клеток в патогенезе витилиго // Вестник дерматологии и венерологии. – 2010. – № 4. – С. 28-32.

49. Сабиров У.Ю. И.Ш.И. Хирургические методы лечения витилиго // Клиническая дерматология и венерология. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 84-90.

50. Симонова Н.И., Ломоносов К.М., Бабешко О.А. Генетические аспекты витилиго (обзор литературы) // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2012. – № 5. – С. 56-59.

51. Тальникова Е.Е. Генетическая предрасположенность и ее роль в развитии витилиго // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2017. – Т. 6, № 1. – С. 233.

52. Тлиш М.М., Поповская Е.Б., Кузнецова Т.Г. и др. Клинические проявления полиморбидности у больных витилиго // Лечащий врач. - 2018. - № 4. - С. 70.

53. Толстов Д.А., Богдан В.Г. Комбинированный тромбоцитарнофибриновый комплекс и обогащенная тромбоцитами плазма в комплексном лечении трофических язв венозной этиологии // Хирургия Восточная Европа. – 2014. – № 3. – С. 45-56.

54. Турбовская С.Н., Корчажкина Н.Б., Круглова Л.С.

Ультрафиолетовая терапия в лечении распространенных кожных заболеваний у детей. Обзор литературы // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2016. – № 4. – С. 70-77.

55. Усовецкий И.А., Бурунова В.В., Короткий Н.Г., Ярыгин К.Н. Консервативная терапия и трансплантация аутологичных меланоцитов при витилиго // Хирург. – 2010. – № 9. – С. 44-51.

56. Усовецкий И.А., Шарова Н.М., Залетаев Д.В., Короткий Н.Г. Поиски генетических маркеров различных форм витилиго // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. – 2010. – Т. 2, № 2. – С. 77-82.

57. Усовецкий И.А., Шарова Н.М., Короткий Н.Г. Клеточная дерматобиология - эффективный инструмент терапии витилиго // Лечебное дело. – 2011. – № 1. – С. 76-79.

58. Шарафутдинова Л.А., Ломоносов К.М. Иммунные аспекты сегментарного и несегментарного витилиго // Российский журнал кожных и венерических болезней // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2015. – № 2. – С. 44-46.

59. Шарафутдинова Л.А., Ломоносов К.М. Современные аспекты топической терапии витилиго // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2014. – № 5. – С. 40-45.

60. Шарафутдинова Л.А. Клинико-иммунологическое обоснование патогенетической терапии сегментарного витилиго: автореф. дис. ... канд. мед. наук. - М., 2016. - 22 с.

61. Широкова Л.Ю., Носков С.М., Бахтиарова Т.И. и др. Локальная терапия гонартроза аутологичной, обогащенной тромбоцитами плазмой // Современные технологии в медицине. – 2012. – № 1. – С. 97-100.

62. Шутин А.А., Попов С.В., Джерелей О.Б., Михайличенко В.Ю. Применение обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении посттравматической нейропатии // Таврический медико-биологический вестник. – 2016. – Т. 19, № 4. – С. 113-118.

63. Юсупова Л.А., Юнусова Е.И. Алгоритм применения уф-в-излучения с длиной волны 311 нм при витилиго // Эффективная фармакотерапия. – 2014. – № 19. – С. 28-31.
64. Юсупова Л.А., Юнусова Е.И. Изучение клинической эффективности наружной терапии больных витилиго // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10-2. – С. 402-405.
65. Юсупова Л.А., Юнусова Е.И., Гараева З.Ш., Мавлютова Г.И. Современные подходы к наружной терапии больных витилиго // Практическая медицина. – 2014. – № 8. – С. 24-26.
66. Ягофаров Ф.Ф., Абдрахманова Г.Ж., Измайлович М.Р. и др. Опыт применения мометокса в лечении витилиго // Наука и здравоохранение. – 2013. – № 2. – С. 47-49.
67. Abdelghani R., Ahmed N.A., Darwish H.M. Combined treatment with fractional carbon dioxide laser, autologous platelet-rich plasma, and narrow band ultraviolet B for vitiligo in different body sites: A prospective, randomized comparative trial // J Cosmet Dermatol. - 2018. - Vol.17(3). - P.365-372.
68. Abdel-Naser M.B., Hann S.K., Bystryn J.C. Oral psoralen with UV-A therapy releases circulating growth factor(s) that stimulates cell proliferation // Arch. Dermatol. – 1997. – Vol. 133, № 12. – P. 1530-1533.
69. Abdelghani R., Ahmed N.A., Darwish H.M. Combined treatment with fractional carbon dioxide laser, autologous platelet-rich plasma, and narrow band ultraviolet B for vitiligo in different body sites: A prospective, randomized comparative trial // J. Cosmet. Dermatol. – Epub 2017 Aug 20.
70. Agrawal K., Agrawal A. Vitiligo: repigmentation with dermabrasion and thin split-thickness skin graft // Dermatol. Surg. – 1995. – Vol. 21, № 4. – P. 295-300.
71. Akay B.N., Bozkir M., Anadolu Y., Gullu S. Epidemiology of vitiligo, associated autoimmune diseases and audiological abnormalities: Ankara study of 80 patients in Turkey // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. – 2010. – Vol. 24, № 10. – P. 1144-1150.

72. Alghamdi K.M., Khurram H., Taieb A., Ezzedine K. Treatment of generalized vitiligo with anti-TNF-alpha Agents // *J. Drugs. Dermatol.* – 2012. – Vol. 11, № 4. – P. 534-539.

73. AlGhamdi K.M., Kumar A. Depigmentation therapies for normal skin in vitiligo universalis // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2011. – Vol. 25, № 7. – P. 749-757.

74. Alikhan A., Felsten L.M., Daly M., Petronic-Rosic V. Vitiligo: a comprehensive overview Part I. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up // *J. Am. Acad. Dermatol.* - 2011. - Vol.65. - P.473-491.

75. Alkhateeb A., Fain P.R., Thody A. et al. Epidemiology of vitiligo and associated autoimmune diseases in Caucasian probands and their families // *Pigment Cell Res.* – 2003. – Vol. 16, № 3. – P. 208-214.

76. Anbar T.S., El-Ammawi T.S., Abdel-Rahman A.T., Hanna M.R. The effect of latanoprost on vitiligo: a preliminary comparative study // *Int J Dermatol.* – 2015. – Vol. 54, № 5. – P. 587-93

77. Anbar T.S., Westerhof W., Abdel-Rahman A.T., El-Khayyat M.A. Evaluation of the effects of NB-UVB in both segmental and non-segmental vitiligo affecting different body sites // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2006. – Vol. 22, № 3. – P. 157-163

78. Anitua E., Orive G., Pla R. et al. The effects of PRGF on bone regeneration and on titanium implant osseointegration in goats: a histologic and histomorphometric study // *J. Biomed Mater Res A.* - 2009. - Vol. 91. - P. 158–165.

79. Ardigo M., Malizewsky I., Dell'anna M.L. et al. Preliminary evaluation of vitiligo using in vivo reflectance confocal microscopy // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2007. – Vol. 21, № 10. – P. 1344-1350.

80. Ashique K.T., Kaliyadan F. Long-Term Follow-up and Donor Site Changes Evaluation in Suction Blister Epidermal Grafting Done for Stable Vitiligo: A Retrospective Study // *Indian. J. Dermatol.* – 2015. – Vol. 60, № 4. – P.

369-372.

81. Averbeck D. Recent advances in psoralen phototoxicity mechanism // *Photochem. Photobiol.* – 1989. – Vol. 50, № 6. – P. 859-882.

82. Babiarz-Magee L., Chen N., Seiberg M. et al. The expression and activation of protease-activated receptor-2 correlate with skin color // *Pigment Cell Res.* - 2004.- Vol.17 (3). - P.241-251.

83. Bae J.M., Jung H.M., Hong B.Y. et al. Phototherapy for Vitiligo: A Systematic Review and Meta-analysis // *JAMA Dermatol.* – 2017. – Vol. 153, № 7. – P. 666-674.

84. Barygina V., Becatti M., Lotti T. et al. Treatment with low-dose cytokines reduces oxidative-mediated injury in perilesional keratinocytes from vitiligo skin // *J. Dermatol. Sci.* - 2015. - Vol.79 (2). - P.163-170.

85. Beebe A.M., Cua D.J., de Waal Malefyt R. The role of interleukin-10 in autoimmune disease: systemic lupus erythematosus (SLE) and multiple sclerosis (MS) // *Cytokine Growth Factor Rev.* - 2002. - Vol.13. - P.403-412.

86. Behm B., Babilas P., Landthaler M., Schreml S. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2012. – Vol. 26, № 7. – P. 812-820.

87. Bellet J.S., Prose N.S. Vitiligo in children: a review of classification, hypotheses of pathogenesis and treatment // *An. Bras. Dermatol.* - 2005. - Vol. 80 (6). - P.633-637.

88. Bendinelli P., Matteucci E., Dogliotti G. et al. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: mechanisms of NF-kappaB inhibition via HGF // *J. Cell. Physiol.* – 2010. – Vol. 225, № 3. – P. 757-766.

89. Berlanga-Acosta J., Gabilondo-Cowley J., Lopez-Saura P. et al. Epidermal growth factor in clinical practice - a review of its biological actions, clinical indications and safety implications // *Int. Wound. J.* – 2009. – Vol. 6, № 5. – P. 331-346

90. Bernuzzi G., Tardito S., Bussolati O. et al. Platelet gel in the treatment

of cutaneous ulcers: the experience of the immunohaematology and transfusion centre of parma // *Blood Transfus.* - 2010. - Vol. 8. - P. 237–247.

91. Bertolotti A., Boniface K., Vergier B. et al. Type I interferon signature in the initiation of the immune response in vitiligo // *Pigment Cell Melanoma Res.* – 2014. – Vol. 27, № 3. – P. 398-407.

92. Boniface K., Seneschal J., Picardo M., Taieb A. Vitiligo: Focus on Clinical Aspects, Immunopathogenesis, and Therapy // *Clin. Rev. Allergy. Immunol.* – Epub 2017 July 6.

93. Boswell S.G., Cole B.J., Sundman E.A. et al. Platelet-rich plasma: a milieu of bioactive factors // *Arthroscopy.* – 2012. – Vol. 28, № 3. – P. 429-439.

94. Campbell K.A., Saltzman B.M., Mascarenhas R. et al. Does Intra-articular Platelet-Rich Plasma Injection Provide Clinically Superior Outcomes Compared With Other Therapies in the Treatment of Knee Osteoarthritis? A Systematic Review of Overlapping Meta-analyses // *Arthroscopy.* – 2015. – Vol. 31, № 11. – P. 2213-2221.

95. Casacci M., Thomas P., Pacifico A. et al. Comparison between 308-nm monochromatic excimer light and narrowband UVB phototherapy (311-313 nm) in the treatment of vitiligo – a multicentre controlled study // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2007. – Vol. 21, № 7. – P. 956-963.

96. Cavalie M., Ezzedine K., Fontas E. et al. Maintenance therapy of adult vitiligo with 0.1% tacrolimus ointment: a randomized, double blind, placebo-controlled study // *J. Invest. Dermatol.* – 2015. – Vol. 135, № 4. – P. 970-974.

97. Cesar Silva de Castro C., Miot H.A. Prevalence of vitiligo in Brazil-A population survey // *Pigment Cell Melanoma Res.* - 2018. - Vol.31(3). - P.448-450.

98. Chan M.F., Thng T.G., Aw C.W. et al. Investigating factors associated with quality of life of vitiligo patients in Singapore // *Int J Nurs Pract.* - 2013. - Vol.19. - P.3-10.

99. Cheong K.A., Noh M., Kim C.H. et al. S100B as a potential biomarker for the detection of cytotoxicity of melanocytes // *Exp. Dermatol.* - 2014. - Vol.23 (3). - P.165-171.

100. Cho J.W., Kim S.A., Lee K.S. Platelet-rich plasma induces increased expression of G1 cell cycle regulators, type I collagen, and matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts // *Int. J. Mol. Med.* - 2012. - Vol. 29.- P.32 –36.
101. Choi C.P., Kim Y.I., Lee J.W., Lee M.H. The effect of narrowband ultraviolet B on the expression of matrix metalloproteinase-1, transforming growth factor-beta1 and type I collagen in human skin fibroblasts // *Clin Exp Dermatol.* - 2007. - Vol.32. - P.180-185.
102. Choi H.R., Shin J.W., Lee H.K. et al. Potential redox-sensitive Akt activation by dopamine activates Bad and promotes cell death in melanocytes // *Oxid Med Cell Longev.* - 2010.- Vol.3(3). - P.219-224.
103. Chu T.W., AlJasser M., Alharbi A., Abahussein O., McElwee K., Shapiro J. Benefit of different concentrations of intralesional triamcinolone acetonide in alopecia areata: An intrasubject pilot study // *J. Am Acad. Dermatol.* – 2015. – Vol.73, №2. – P. 338-340.
104. Cichorek M., Wachulska M., Stasiewicz A. et al. Skin melanocytes: biology and development // *Postepy Dermatol Alergol.* - 2013. - Vol.30(1). - P.30-41.
105. Coppinger J.A., Cagney G., Toomey S. et al. Characterization of the proteins released from activated platelets leads to localization of novel platelet proteins in human atherosclerotic lesions // *Blood.* – 2004. – Vol. 103, № 6. – P. 2096-2104.
106. Coskun B., Saral Y., Turgut D. Topical 0.05% clobetasol propionate versus 1% pimecrolimus ointment in vitiligo // *Eur. J. Dermatol.* – 2005. – Vol. 15, № 2. – P. 88-91.
107. Das S.K., Majumder P.P., Chakraborty R. et al. Studies on vitiligo. I. Epidemiological profile in Calcutta, India // *Genet. Epidemiol.* – 1985. – Vol. 2, № 1. – P. 71-78.
108. Davis V.L., Abukabda A.B., Radio N.M. et al. Platelet-rich preparations to improve healing. Part I: workable options for every size practice //

J. Oral. Implantol. – 2014. – Vol. 40, № 4. – P. 500-510.

109. Dell'anna M.L., Picardo M. A review and a new hypothesis for non-immunological pathogenetic mechanisms in vitiligo // *Pigment Cell Res.* – 2006. – Vol. 19, № 5. – P. 406-411.

110. Denapoli P.M., Stilhano R.S., Ingham S.J. et al. Platelet-Rich Plasma in a Murine Model: Leukocytes, Growth Factors, Flt-1, and Muscle Healing // *Am. J. Sports Med.* – 2016. – Vol. 44, № 8. – P. 1962-1971.

111. Dey-Rao R., Sinha A.A. Interactome analysis of gene expression profile reveals potential novel key transcriptional regulators of skin pathology in vitiligo // *Genes Immun.* - 2016. - Vol.17. - P.30-45.

112. Dhillon R.S., Schwarz E.M., Maloney M.D. Platelet-rich plasma therapy - future or trend? // *Arthritis Res. Ther.* – 2012. – Vol. 14, № 4. – P. 219.

113. Dimauro I., Grasso L., Fittipaldi S. et al. Platelet-rich plasma and skeletal muscle healing: a molecular analysis of the early phases of the regeneration process in an experimental animal model // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, № 7. – P. e102993.

114. Dinarello C.A., van der Meer J.W. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans // *Semin. Immunol.* - 2013. - Vol.25(6). - P.469-484.

115. Dong L., Li Y., Cao J. et al. FGF2 regulates melanocytes viability through the STAT3-transactivated PAX3 transcription // *Cell Death Differ.* - 2012. - Vol.19(4). - P.616-622.

116. Donovan J. Successful treatment of corticosteroid-resistant ophiasis-type alopecia areata (AA) with platelet-rich plasma (PRP) // *JAAD Case Rep.* – 2015. – Vol. 1, № 5. – P. 305-307.

117. Dwivedi M., Laddha N.C., Arora P. et al. Decreased regulatory T-cells and CD4(+) /CD8(+) ratio correlate with disease onset and progression in patients with generalized vitiligo // *Pigment Cell Melanoma Res.* – 2013. – Vol. 26, № 4. – P. 586-591.

118. Dwivedi M., Laddha N.C., Shajil E.M. et al. The ACE gene I/ D polymorphism is not associated with generalized vitiligo susceptibility in Gujarat

population // *Pigment Cell Melanoma Res.* – 2008. – Vol. 21, № 3. – P. 407-408.

119. Ebanks J.P., Koshoffer A., Wickett R.R. et al. Hydrolytic enzymes of the interfollicular epidermis differ in expression and correlate with the phenotypic difference observed between light and dark skin // *J. Dermatol.* - 2013. - Vol.40(1).- P.27-33

120. Edwards C. Measurement of vitiligo: human vs. Machine // *Br. J. Dermatol.* - 2019. - Vol.180(5). - P.991.

121. Eleftheriadou V., Whitton M.E., Gawkrödger D.J. et al. Future research into the treatment of vitiligo: where should our priorities lie? Results of the vitiligo priority setting partnership // *Br. J. Dermatol.* - 2011. - Vol.164. - P.530-536.

122. Elela M.A., Hegazy R.A., Fawzy M.M. et al. Interleukin 17, interleukin 22 and FoxP3 expression in tissue and serum of non-segmental vitiligo: a case- controlled study on eighty-four patients // *Eur. J. Dermatol.* – 2013. – Vol. 23, № 3. – P. 350-355.

123. Eming S.A., Martin P., Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation // *Sci. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 6, № 265. – P. 265.

124. Eppley B.L., Pietrzak W.S., Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery // *Plast. Reconstr. Surg.*- 2006.- Vol. 118. - P. 147–159.

125. Esmat S., Hegazy R.A., Shalaby S. et al. Phototherapy and Combination Therapies for Vitiligo // *Dermatol. Clin.* – 2017. – Vol. 35, № 2. – P. 171-192.

126. Esmat S., Abdel Halim D.M., Hegazy R.A. et al. Matrix metalloproteinase in acral and non-acral vitiligo // *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* - 2018. - Vol.34(3). - P.211-213.

127. Falabella R. Surgical approaches for stable vitiligo // *Dermatol. Surg.* – 2005. – Vol. 31, № 10. – P. 1277-1284.

128. Feetham H.J., Chan J.L., Pandya A.G. Characterization of clinical

response in patients with vitiligo undergoing autologous epidermal punch grafting // *Dermatol. Surg.* – 2012. – Vol. 38, № 1. – P. 14-19.

129. Felsten L.M., Alikhan A., Petronic-Rosic V. Vitiligo: a comprehensive overview Part II: treatment options and approach to treatment // *J. Am. Acad Dermatol.* - 2011. - Vol.65. - P.493-514.

130. Filardo G., Kon E., Della Villa S. et al. Use of platelet-rich plasma for the treatment of refractory jumper's knee // *Int. Orthop.* – 2010. – Vol. 34, № 6. – P. 909-915.

131. Filardo G., Kon E., Di Martino A. et al. Platelet-rich plasma vs hyaluronic acid to treat knee degenerative pathology: study design and preliminary results of a randomized controlled trial // *BMC Musculoskelet. Disord.* – 2012. – Vol. 13. – P. 229.

132. Flad H.D., Brandt E. Platelet-derived chemokines: pathophysiology and therapeutic aspects // *Cell Mol. Life Sci.* – 2010. – Vol. 67, № 14. – P. 2363-2386.

133. Fongers A., Wolkerstorfer A., Nieuweboer-Krobotova L. et al. Long-term results of 2-mm punch grafting in patients with vitiligo vulgaris and segmental vitiligo: effect of disease activity // *Br. J. Dermatol.* – 2009. – Vol. 161, № 5. – P. 1105-1111.

134. Garg A.K. The use of platelet-rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants // *Dent. Implantol. Update.* – 2000. – Vol. 11, № 3. – P. 17-21.

135. Garg S., Dosapaty N., Arora A.K. Laser Ablation of the Recipient Area With Platelet-Rich Plasma-Enriched Epidermal Suspension Transplant in Vitiligo Surgery: A Pilot Study // *Dermatol Surg.* - 2019. - Vol.45(1). - P.83-89.

136. Gauthier Y., Benzekri L. Non-cultured epidermal suspension in vitiligo: from laboratory to clinic // *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* – 2012. – Vol. 78, № 1. – P. 59-63.

137. Gawkrödger D.J., Ormerod A.D., Shaw L. et al. Guideline for the diagnosis and management of vitiligo // *Br. J. Dermatol.* – 2008. – Vol. 159, № 5.

– P. 1051-1076.

138. Ghia D., Mulekar S. Handbook of vitiligo: basic science and clinical management. – London: JP Medical Publishers, 2015. – 202 p.

139. Gibbons N.C., Wood J.M., Rokos H., Schallreuter K.U. Computer simulation of native epidermal enzyme structures in the presence and absence of hydrogen peroxide (H₂O₂): potential and pitfalls // J. Invest. Dermatol. – 2006. – Vol. 126, № 12. – P. 2576-2582.

140. Gill L., Zarbo A., Isedeh P. et al. Comorbid autoimmune diseases in patients with vitiligo: A cross-sectional study // J. Am. Acad. Dermatol. – 2016. – Vol. 74, № 2. – P. 295-302.

141. Glassman S.J. Vitiligo, reactive oxygen species and T-cells // Clin. Sci (Lond). - 2011. - Vol.120 (3). - P.99-120.

142. Gleissner C.A., Shaked I., Little K.M., Ley K. CXC chemokine ligand 4 induces a unique transcriptome in monocyte-derived macrophages // J. Immunol. – 2010. – Vol. 184, № 9. – P. 4810-4818.

143. Gokhale B.B., Parakh A.P. Cyclophosphamide in vitiligo // Indian J. Dermatol. – 1983. – Vol. 28, № 1. – P. 7-10.

144. Gokhale B.B., Mehta L.N. Histopathology of vitiliginous skin // Int. J. Dermatol. – 1983. – Vol. 22, № 8. – P. 477-80.

145. Gou D., Currimbhoy S., Pandya A.G. Suction blister grafting for vitiligo: efficacy and clinical predictive factors // Dermatol. Surg. – 2015. – Vol. 41, № 5. – P. 633-639.

146. Guerra L., Primavera G., Raskovic D. et al. Erbium:YAG laser and cultured epidermis in the surgical therapy of stable vitiligo // Arch. Dermatol. – 2003. – Vol. 139, № 10. – P. 1303-1310.

147. Gumina S., Campagna V., Ferrazza G. et al. Use of platelet-leukocyte membrane in arthroscopic repair of large rotator cuff tears: a prospective randomized study // J. Bone Joint Surg. Am. – 2012. – Vol. 94, № 15. – P. 1345-1352.

148. Gupta S., Kumar B. Epidermal grafting in vitiligo: influence of age,

site of lesion, and type of disease on outcome // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2003. – Vol. 49, № 1. – P. 99-104.

149. Gupta S., Shroff S., Gupta S. Modified technique of suction blistering for epidermal grafting in vitiligo // *Int. J. Dermatol.* – 1999. – Vol. 38, № 4. – P. 306-309.

150. Halpern S.M., Anstey A.V., Dawe R.S. et al. Guidelines for topical PUVA: a report of a workshop of the British photodermatology group // *Br. J. Dermatol.* – 2000. – Vol. 142, № 1. – P. 22-31.

151. Handa S., Dogra S. Epidemiology of childhood vitiligo: a study of 625 patients from north India // *Pediatr. Dermatol.* – 2003. – Vol. 20, № 3. – P. 207-210.

152. Harris J.E. Chemical-Induced Vitiligo // *Dermatol. Clin.* – 2017. – Vol. 35, № 2. – P. 151-161.

153. Harris J.E. Cellular stress and innate inflammation in organ-specific autoimmunity: lessons learned from vitiligo // *Immunol. Rev.* – 2016. – Vol. 269, № 1. – P. 11-25.

154. Harris J.E., Harris T.H., Weninger W. et al. A mouse model of vitiligo with focused epidermal depigmentation requires IFN-gamma for autoreactive CD8(+) T-cell accumulation in the skin // *J. Invest. Dermatol.* – 2012. – Vol. 132, № 7. – P. 1869-1876.

155. Hirobe T., Hasegawa K., Furuya R. et al. Effects of fibroblast-derived factors on the proliferation and differentiation of human melanocytes in culture // *J. Dermatol. Sci.* - 2013.- Vol.71(1). - P.45-57.

156. Hirobe T. Role of keratinocyte-derived factors involved in regulating the proliferation and differentiation of mammalian epidermal melanocytes // *Pigment Cell Res.* - 2005.- Vol.18(1).- P.2-12.

157. Ho N., Pope E., Weinstein M. et al. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of topical tacrolimus 0.1% vs. clobetasol propionate 0.05% in childhood vitiligo // *Br. J. Dermatol.* – 2011. – Vol. 165, № 3. – P. 626-632.

158. Hossain C., Porto D.A., Hamzavi I., Lim H.W. Camouflaging Agents

for Vitiligo Patients // *J. Drugs. Dermatol.* – 2016. – Vol. 15, № 4. – P. 384-387.

159. Hsu W.K., Mishra A., Rodeo S.R. et al. Platelet-rich plasma in orthopaedic applications: evidence-based recommendations for treatment // *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* – 2013. – Vol. 21, № 12. – P. 739-748.

160. Huang C.L., Nordlund J.J., Boissy R. Vitiligo: a manifestation of apoptosis? // *Am. J. Clin. Dermatol.* - 2002. - Vol. 3. - P. 301–308.

161. Huggins R.H., Henderson M.D., Mulekar S.V. et al. Melanocyte-keratinocyte transplantation procedure in the treatment of vitiligo: the experience of an academic medical center in the United States // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2012. – Vol. 66, № 5. – P. 785-793.

162. Hyter S., Coleman D.J., Ganguli-Indra G. et al. Endothelin-1 is a transcriptional target of p53 in epidermal keratinocytes and regulates ultraviolet-induced melanocyte homeostasis // *Pigment Cell Melanoma Res.* - 2013. - Vol.26(2). - P.247-258.

163. Ibrahim Z.A., El-Ashmawy A.A., El-Tatawy R.A., Sallam F.A. The effect of platelet-rich plasma on the outcome of short-term narrowband-ultraviolet B phototherapy in the treatment of vitiligo: a pilot study // *J. Cosmet. Dermatol.* – 2016. – Vol. 15, №2. – P. 108-116.

164. Itoi S., Tanemura A., Kotobuki Y. et al. Coexistence of Langerhans cells activation and immune cells infiltration in progressive nonsegmental vitiligo // *J. Dermatol. Sci.* – 2014. – Vol. 73, № 1. – P. 83-85.

165. Jain D., Misra R., Kumar A. et al. Levels of malondialdehyde and antioxidants in the blood of patients with vitiligo of age group 11-20 years // *Indian J. Physiol. Pharmacol.* - 2008. - Vol.52 (3). - P.297-301.

166. Jedlitschky G., Tirschmann K., Lubenow L.E. et al. The nucleotide transporter MRP4 (ABCC4) is highly expressed in human platelets and present in dense granules, indicating a role in mediator storage // *Blood.* – 2004. – Vol. 104, № 12. – P. 3603-3610.

167. Jian Z., Li K., Liu L. et al. Heme oxygenase-1 protects human melanocytes from H₂O₂-induced oxidative stress via the Nrf2-ARE pathway // *J.*

Invest. Dermatol. - 2011. - Vol.131(7). - P.1420-1427.

168. Jian Z., Li K., Song P. et al. Impaired activation of the Nrf2-ARE signaling pathway undermines H₂O₂-induced oxidative stress response: a possible mechanism for melanocyte degeneration in vitiligo // J. Invest. Dermatol. - 2014. - Vol.134 (8). - P.2221-2230.

169. Jin Y., Birlea S.A., Fain P.R. et al. Genome-wide association analyses identify 13 new susceptibility loci for generalized vitiligo // Nat. Genet. – 2012. – Vol. 44, № 6. – P. 676-680.

170. Jung H., Chung H., Chang S.E. et al. FK506 regulates pigmentation by maturing the melanosome and facilitating their transfer to keratinocytes // Pigment Cell. Melanoma. Res. – 2016. – Vol. 29, № 2. – P. 199-209.

171. Jung H., Oh E.S. FK506 positively regulates the migratory potential of melanocyte-derived cells by enhancing syndecan-2 expression // Pigment Cell. Melanoma. Res. – 2016. – Vol. 29, № 4. – P. 434-443.

172. Kadry M., Tawfik A., Abdallah N. et al. Platelet-rich plasma versus combined fractional carbon dioxide laser with platelet-rich plasma in the treatment of vitiligo: a comparative study // Clin Cosmet Investig Dermatol. - 2018. - Vol.11. - P.551-559.

173. Kahn A.M., Cohen M.J. Vitiligo: treatment by dermabrasion and epithelial sheet grafting // J. Am. Acad. Dermatol. – 1995. – Vol. 33, № 4. – P. 646-648.

174. Kahn A.M., Cohen M.J. Repigmentation in vitiligo patients. Melanocyte transfer via ultra-thin grafts // Dermatol. Surg. – 1998. – Vol. 24, № 3. – P. 365-367.

175. Kandil E. Treatment of localized vitiligo with intradermal injections of triamcinolone acetonide // Dermatologica. – 1970. – Vol. 140, № 3. – P. 195-206.

176. Kapoor R., Phiske M.M., Jerajani H.R. Evaluation of safety and efficacy of topical prostaglandin E₂ in treatment of vitiligo // Br J Dermatol. – 2009. – Vol. 160, № 4. – P. 861-3.

177. Karimipour D.J., Rittie L., Hammerberg C et al. Molecular analysis of aggressive microdermabrasion in photoaged skin // Arch. Dermatol. - 2009. - Vol.145. - P. 1114–1122.

178. Karsli N., Akcali C., Ozgoztasi O. et al. Role of oxidative stress in the pathogenesis of vitiligo with special emphasis on the antioxidant action of narrowband ultraviolet B phototherapy // J. Int. Med. Res. - 2014. - Vol.42 (3). - P.799-805.

179. Kaux J.F., Le Goff C., Seidel L. et al. Comparative study of five techniques of preparation of platelet –rich plasma // Pathol. Biol. - 2011. - Vol. 59. - P. 157–160.

180. Kim D.Y., Lee J.W., Whang S.H. et al. Quality of life for Korean patients with vitiligo: Skindex-29 and its correlation with clinical profiles // J Dermatol. – 2009. – Vol. 36, № 6. – P. 317-322.

181. Kim J.Y., Kim do Y., Son H. et al. Protease-activated receptor-2 activates NQO-1 via Nrf2 stabilization in keratinocytes // J. Dermatol. Sci.- 2014. - Vol.74(1). - P.48-55.

182. Kim N.H., Torchia D., Rouhani P. et al. Tumor necrosis factor-alpha in vitiligo: direct correlation between tissue levels and clinical parameters // Cutan. Ocul. Toxicol. – 2011. – Vol. 30, № 3. – P. 225-227.

183. Kim Y.C., Kim Y.J., Kang H.Y. et al. Histopathologic features in vitiligo // Am. J. Dermatopathol. – 2008. – Vol. 30, № 2. – P. 112-116.

184. Kim W.S., Park B.S., Park S.H. et al. Anti-wrinkle effect of adipose-derived stem cell: activation of dermal fibroblast by secretory factors // J. Dermatol. Sci. - 2009. - Vol.53. - P. 96 –102.

185. Kingo K., Reimann E., Karelson M. et al. Association analysis of genes of the IL19 cluster and their receptors in vitiligo patients // Dermatology. - 2010. - Vol.221(3). - P.261-266.

186. Kingo K., Aunin E., Karelson M. et al. Expressional changes in the intracellular melanogenesis pathways and their possible role in the pathogenesis of vitiligo // J. Dermatol. Sci. - 2008. - Vol.52(1). - P.39-46.

187. Kitamura R., Tsukamoto K., Harada K. et al. Mechanisms underlying the dysfunction of melanocytes in vitiligo epidermis: role of SCF/KIT protein interactions and the downstream effector. MITF-M // *J. Pathol.* - 2004. - Vol.202(4).- P.463-475.
188. Knezevic N.N., Candido K.D., Desai R., Kaye A.D. Is Platelet-Rich Plasma a Future Therapy in Pain Management? // *Med. Clin. North. Am.* – 2016. – Vol. 100, № 1. – P. 199-217.
189. Ko W.C., Chen Y.F. Suction blister epidermal grafts combined with CO2 laser superficial ablation as a good method for treating small-sized vitiligo // *Dermatol. Surg.* – 2009. – Vol. 35, № 4. – P. 601-606.
190. Korobko I.V., Lomonosov K.M. A pilot comparative study of topical latanoprost and tacrolimus in combination with narrow-band ultraviolet B phototherapy and microneedling for the treatment of nonsegmental vitiligo // *Dermatol Ther.* – 2016. – Vol. 29, № 6. – P. 437-441.
191. Kota R.S., Vora R.V., Varma J.R. et al. Study on Assessment of Quality of Life and Depression in Patients of Vitiligo // *Indian Dermatol Online J.* - 2019. - Vol.10(2). - P.153-157.
192. Kotb El-Sayed M.I., Abd El-Ghany A.A., Mohamed R.R. Neural and Endocrinal Pathobiochemistry of Vitiligo: Comparative Study for a Hypothesized Mechanism // *Front Endocrinol (Lausanne).* - 2018. - Vol.9:197. doi: 10.3389/fendo.2018.00197.
193. Krishnan A., Kar S. Smashed skin grafting or smash grafting - a novel method of vitiligo surgery // *Int. J. Dermatol.* – 2012. – Vol. 51, № 10. – P. 1242-1247.
194. Kroll T.M., Bommasamy H., Boissy R.E. et al. 4-Tertiary butyl phenol exposure sensitizes human melanocytes to dendritic cell-mediated killing: relevance to vitiligo // *J. Invest. Dermatol.* – 2005. – Vol. 124, № 4. – P. 798-806.
195. Kundu R.V., Mhlaba J.M., Rangel S.M., Le Poole I.C. The convergence theory for vitiligo: A reappraisal // *Exp Dermatol.* - 2018. - Apr 28. [Epub ahead of print].

196. Kyriakis K.P., Palamaras I., Tsele E. et al. Case detection rates of vitiligo by gender and age // *Int. J. Dermatol.* – 2009. – Vol. 48, № 3. – P. 328-329.
197. Le Poole I.C., Das P.K., van den Wijngaard R.M. et al. Review of the etiopathomechanism of vitiligo: a convergence theory // *Exp. Dermatol.* – 1993. – Vol. 2, № 4. – P. 145-153.
198. Lee A.Y., Kim N.H., Choi W.I. et al. Less keratinocyte-derived factors related to more keratinocyte apoptosis in depigmented than normally pigmented suction-blistered epidermis may cause passive melanocyte death in vitiligo // *J. Invest. Dermatol.* - 2005. - Vol.124 (5). - P.976-983.
199. Lee A.Y. Role of keratinocytes in the development of vitiligo // *Ann. Dermatol.* - 2012. - Vol.24(2). - P.115-125.
200. Lee H.S., Goh M.J., Kim J. et al. A systems-biological study on the identification of safe and effective molecular targets for the reduction of ultraviolet B-induced skin pigmentation // *Sci Rep.* - 2015. - Vol.5. - P.10305
201. Lee J., Chu H., Lee H. et al. A Retrospective Study of Methylprednisolone Mini-Pulse Therapy Combined with Narrow-Band UVB in Non-Segmental Vitiligo // *Dermatology.* – 2016. – Vol. 232, № 2. – P. 224-229.
202. Lei T.C., Vieira W.D., Hearing V.J. In vitro migration of melanoblasts requires matrix metalloproteinase-2: implications to vitiligo therapy by photochemotherapy // *Pigment Cell. Res.* – 2002. – Vol. 15, № 6. – P. 426-432.
203. Leone G., Paro Vidolin A. Effect of an antioxydant cream versus placebo in patients with vitiligo in association with excimer laser. A pilot randomized, investigator-blinded, and half-side comparison trial // *G. Ital. Dermatol. Venereol.* – 2015. – Vol. 150, № 4. – P. 461-466.
204. Lepe V., Moncada B., Castanedo-Cazares J.P. et al. A double-blind randomized trial of 0.1% tacrolimus vs 0.05% clobetasol for the treatment of childhood vitiligo // *Arch. Dermatol.* – 2003. – Vol. 139, № 5. – P. 581-585.
205. Levandowski C.B., Mailloux C.M., Ferrara T.M. et al. NLRP1 haplotypes associated with vitiligo and autoimmunity increase interleukin-1beta processing via the NLRP1 inflammasome // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. –

Vol. 110, № 8. – P. 2952-2956.

206. Li P., Ma H., Han D. et al. Interleukin-33 affects cytokine production by keratinocytes in vitiligo // *Clin. Exp. Dermatol.* - 2015. - Vol.40(2). - P.163-170.

207. Liang L., Li Y., Tian X. et al. Comprehensive lipidomic, metabolomic and proteomic profiling reveals the role of immune system in vitiligo // *Clin Exp Dermatol.* - 2019. - Mar 12. doi: 10.1111/ced.13961. [Epub ahead of print]

208. Lim H.K., Sh M.K., Lee M.H. Clinical application of PRP in vitiligo: a pilot study. Official 1st International Pigment Cell Conference, 2011.

209. Linthorst Homan M.W., Spuls P.I., de Korte J. et al. The burden of vitiligo: patient characteristics associated with quality of life // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2009. – Vol. 61, № 3. – P. 411-420.

210. Lippross S., Moeller B., Haas H. et al. Intraarticular injection of platelet-rich plasma reduces inflammation in a pig model of rheumatoid arthritis of the knee joint // *Arthritis Rheum.* – 2011. – Vol. 63, № 11. – P. 3344-3353.

211. Lotti T., D’Erme A.M. Vitiligo as a systemic disease // *Clin. Dermatol.* - 2014. - Vol.32 (3). - P.430-434.

212. Lotti T., Buggiani G., Troiano M. et al. Targeted and combination treatments for vitiligo. Comparative evaluation of different current modalities in 458 subjects // *Dermatol. Ther.* – 2008. – Vol. 21 Suppl 1. – P. S20-26.

213. Lotti T., Hercogova J., Wollina U. et al. Vitiligo: successful combination treatment based on oral low dose cytokines and different topical treatments // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* - 2015. - Vol.29 (Suppl. 1). - P.53-58.

214. Lu T., Gao T., Wang A. et al. Vitiligo prevalence study in Shaanxi Province, China // *Int. J. Dermatol.* – 2007. – Vol. 46, № 1. – P. 47-51.

215. Lucarelli E., Beretta R., Dozza B. et al. A recently developed bifacial platelet-rich fibrin matrix // *Eur. Cell Mater.* - 2010. - Vol. 20. - P.13 –23.

216. Mapar M.A., Safarpour M., Mapar M., Haghizadeh M.H. A comparative study of the mini-punch grafting and hair follicle transplantation in

the treatment of refractory and stable vitiligo // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2014. – Vol. 70, № 4. – P. 743-747.

217. March L., Woolf A.D. The global burden of musculoskeletal conditions - why is it important? // *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* – 2010. – Vol. 24, № 6. – P. 721.

218. Marie J., Kovacs D., Pain C. et al. Inflammasome activation and vitiligo/ nonsegmental vitiligo progression // *Br. J. Dermatol.* - 2014. - Vol.170(4). - P.816-823.

219. Marques L.F., Stessuk T., Camargo I.C. et al. Platelet-rich plasma (PRP): methodological aspects and clinical applications // *Platelets.* – 2015. – Vol. 26, № 2. – P. 101-113.

220. Maruthappu T., Leandro M., Morris S.D. Deterioration of vitiligo and new onset of halo naevi observed in two patients receiving adalimumab // *Dermatol. Ther.* – 2013. – Vol. 26, № 4. – P. 370-2.

221. Marx R.E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use // *J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2004. – Vol. 62, № 4. – P. 489-496.

222. Mattoo S.K., Handa S., Kaur I. et al. Psychiatric morbidity in vitiligo: prevalence and correlates in India // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2002. – Vol. 16, № 6. – P. 573-578.

223. Maynard D.M., Heijnen H.F., Horne M.K. et al. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry // *J. Thromb. Haemost.* – 2007. – Vol. 5, № 9. – P. 1945-1955.

224. Mazzucco L., Balbo V., Cattana E. et al. Not every PRP-gel is born equal. Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet, RegenPRP-Kit, Plateltex and one manual procedure // *Vox Sang.* – 2009. – Vol. 97, № 2. – P. 110-118.

225. McGovern T.W., Bologna J., Leffell D.J. Flip-top pigment transplantation: a novel transplantation procedure for the treatment of depigmentation // *Arch. Dermatol.* – 1999. – Vol. 135, № 11. – P. 1305-1307.

226. Meheux C.J., McCulloch P.C., Lintner D.M. et al. Efficacy of Intra-

articular Platelet-Rich Plasma Injections in Knee Osteoarthritis: A Systematic Review // *Arthroscopy*. – 2016. – Vol. 32, № 3. – P. 495-505.

227. Mei-Dan O., Lippi G., Sanchez M. et al. Autologous platelet-rich plasma: arevolution in soft tissue sports injury management? // *Phys Sportsmed*. - 2010. - Vol. 38. -P. 127–135.

228. Mlynarek R.A., Kuhn A.W., Bedi A. Platelet-Rich Plasma (PRP) in Orthopedic Sports Medicine // *Am. J. Orthop. (Belle Mead NJ)*. – 2016. – Vol. 45, № 5. – P. 290-326.

229. Mohammad T.F., Hamzavi I.H. Surgical Therapies for Vitiligo // *Dermatol. Clin.* – 2017. – Vol. 35, № 2. – P. 193-203.

230. Mohanty S., Kumar A., Dhawan J. et al. Noncultured extracted hair follicle outer root sheath cell suspension for transplantation in vitiligo // *Br. J. Dermatol.* – 2011. – Vol. 164, № 6. – P. 1241-6.

231. Moneib H.A., Youssef S.S., Aly D.G. et al. Autologous platelet-rich plasma versus conventional therapy for the treatment of chronic venous leg ulcers: A comparative study // *J. Cosmet. Dermatol.* – Epub 2017 Aug 19.

232. Mosenson J.A., Eby J.M., Hernandez C., Le Poole I.C. A central role for inducible heat-shock protein 70 in autoimmune vitiligo // *Exp Dermatol.* – 2013. – Vol. 22, № 9. – P. 566-569.

233. Mosenson J.A., Zloza A., Nieland J.D. et al. Mutant HSP70 reverses autoimmune depigmentation in vitiligo // *Sci. Transl. Med.* – 2013. – Vol. 5, № 174. – P. 174.

234. Mulekar S.V. Melanocyte-keratinocyte cell transplantation for stable vitiligo // *Int. J. Dermatol.* – 2003. – Vol. 42, № 2. – P. 132-136.

235. Mulekar S.V., Isedeh P. Surgical interventions for vitiligo: an evidence-based review // *Br. J. Dermatol.* – 2013. – Vol. 169 Suppl 3. – P. 57-66.

236. Nantel-Battista M., Richer V., Marcil I., Benohanian A. Treatment of nail psoriasis with intralesional triamcinolone acetonide using a needle-free jet injector: a prospective trial // *J. Cutan. Med. Surg.* – 2014. – Vol.18, №1. – P. 38-42.

237. Nasti T.H., Timares L. Inflammasome activation of IL-1 family mediators in response to cutaneous photodamage // *Photochem. Photobiol.* - 2012. - Vol.88(5). - P.1111-1125.

238. Nguyen T.V., Cowen E.W., Leslie K.S. Autoinflammation: From monogenic syndromes to common skin diseases// *J. Am. Acad. Dermatol.* - 2013. - Vol.68(5). - P.834-853.

239. Nicolaidou E., Antoniou C., Stratigos A.J. et al. Efficacy, predictors of response, and long-term follow-up in patients with vitiligo treated with narrowband UVB phototherapy // *J Am Acad Dermatol.* – 2007. – Vol. 56, № 2. – P. 274-278.

240. Nicolaidou E., Antoniou C., Stratigos A., Katsambas A.D. Narrowband ultraviolet B phototherapy and 308-nm excimer laser in the treatment of vitiligo: a review // *J. Am. Acad Dermatol.* - 2009. - Vol.60. - P.470-477.

241. Njoo M.D., Bos J.D., Westerhof W. Treatment of generalized vitiligo in children with narrow-band (TL-01) UVB radiation therapy // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2000. – Vol. 42, № 2 Pt 1. – P. 245-253.

242. Njoo M.D., Spuls P.I., Bos J.D. et al. Nonsurgical repigmentation therapies in vitiligo. Meta-analysis of the literature // *Arch. Dermatol.* – 1998. – Vol. 134, № 12. – P. 1532-1540.

243. Nouri-Koupae A., Mansouri P., Jahanbini H. et al. Differential expression

244. of mRNA for T-bet and GATA-3 transcription factors in peripheral blood mononuclear cells of patients with vitiligo // *Clin. Exp. Dermatol.* - 2015; 2015. - Vol.40(7). - P.735-740.

245. Novak Z., Bonis B., Baltas E. et al. Xenon chloride ultraviolet B laser is more effective in treating psoriasis and in inducing T cell apoptosis than narrow-band ultraviolet B // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2002. – Vol. 67, № 1. – P. 32-38.

246. Oliveira Filho M.A., Nassif P.A., Malafaia O. et al. Effects of a highly concentrated platelet-rich plasma on the bone repair using non-critical defects in the calvaria of rabbits // *Acta Cir. Bras.* – 2010. – Vol. 25, № 1. – P. 28-33.

247. Oliver E., Schwartz L., Warren L. Occupational leukoderma preliminary report // JAMA. – 1939. № 113. – P. 927-928.
248. Onunu A.N., Kubeyinje E.P. Vitiligo in the Nigerian African: a study of 351 patients in Benin City, Nigeria // Int. J. Dermatol. – 2003. – Vol. 42, № 10. – P. 800-802.
249. Ortonne J. Vitiligo and other disorders of hypopigmentation / In: J. Jorizzo, R. Rapini, eds. Dermatology Bologna, Vol. 1, 2nd edn. - Spain: Elsevier, 2008. - 65 p.
250. Ozawa M., Ferenczi K., Kikuchi T. et al. 312-nanometer ultraviolet B light (narrow-band UVB) induces apoptosis of T cells within psoriatic lesions // J. Exp. Med. – 1999. – Vol. 189, № 4. – P. 711-718.
251. Pacifico A., Leone G. Photo(chemo)therapy for vitiligo // Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. – 2011. – Vol. 27, № 5. – P. 261-277.
252. Parambath N., Sharma VK., Parihar A.S. et al. Use of platelet-rich plasma to suspend noncultured epidermal cell suspension improves repigmentation after autologous transplantation in stable vitiligo: a double-blind randomized controlled trial // Int J Dermatol. - 2019. - Vol.58(4). - P.472-476.
253. Paul W.E., Zhu J. How are T(H)2-type immune responses initiated and amplified? // Nat. Rev. Immunol. - 2010. - Vol.10(4). -P.225-235.
254. Picard F., Hersant B., Niddam J., Meningaud J.P. Injections of platelet-rich plasma for androgenic alopecia: A systematic review // J. Stomatol. Oral Maxillofac. Surg. – 2017. – Epub 2017 Aug 1.
255. Ponsonby A.L., Lucas R.M., van der Mei I.A. UVR, vitamin D and three autoimmune diseases--multiple sclerosis, type 1 diabetes, rheumatoid arthritis // Photochem. Photobiol. – 2005. – Vol. 81, № 6. – P. 1267-1275.
256. Radakovic-Fijan S., Furnsinn-Friedl A.M., Honigsmann H., Tanew A. Oral dexamethasone pulse treatment for vitiligo // J. Am. Acad. Dermatol. – 2001. – Vol. 44, № 5. – P. 814-817.
257. Radakovic S., Breier-Maly J., Konschitzky R. et al. Response of vitiligo to once- vs. twice-daily topical tacrolimus: a controlled prospective,

randomized, observer-blinded trial // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2009. – Vol. 23, № 8. – P. 951-953.

258. Rashighi M., Agarwal P., Richmond J.M. et al. CXCL10 is critical for the progression and maintenance of depigmentation in a mouse model of vitiligo // *Sci. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 6, № 223. – P. 223

259. Redaelli A., Romano D., Marciano A. Face and neck revitalization with platelet-rich plasma (PRP): clinical outcome in a series of 23 consecutively treated patients // *J. Drugs Dermatol.* - 2010. - Vol. 9. - P. 466–472.

260. Regazzetti C., Joly F., Marty C. et al. Transcriptional Analysis of Vitiligo Skin Reveals the Alteration of WNT Pathway: A Promising Target for Repigmenting Vitiligo Patients // *J. Invest. Dermatol.* – 2015. – Vol. 135, № 12. – P. 3105-3114.

261. Reimann E., Kingo K., Karelson M. et al. The mRNA expression profile of cytokines connected to the regulation of melanocyte functioning in vitiligo skin biopsy samples and peripheral blood mononuclear cells // *Hum. Immunol.* - 2012. - Vol.73(4). - P.393-398.

262. Reimann E., Kingo K., Karelson M. et al. Expression profile of genes associated with the dopamine pathway in vitiligo skin biopsies and blood sera // *Dermatology.* - 2012. - Vol.224 (2). - P.168-176.

263. Reimann E., Kingo K., Karelson M. et al. Analysis of the expression profile of CRH-POMC system genes in vitiligo skin biopsies // *J. Dermatol. Sci.* - 2010. - Vol.60(2). - P.125-128.

264. Richmond J.M., Frisoli M.L., Harris J.E. Innate immune mechanisms in vitiligo: danger from within // *Curr. Opin. Immunol.* – 2013. – Vol. 25, № 6. – P. 676-682.

265. Rork J.F., Rashighi M., Harris J.E. Understanding autoimmunity of vitiligo and alopecia areata // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2016. – Vol. 28, № 4. – P. 463-469.

266. Roychoudhuri R., Hirahara K., Mousavi K. et al. BACH2 represses effector programs to stabilize T(reg)mediated immune homeostasis // *Nature.* -

2013. - Vol.498 (7455). - P.506-510.

267. Sanchez A.R., Sheridan P.J., Kupp L.I. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review // *Int J Oral Maxillofac Implants.* – 2003. – Vol. 18, № 1. – P. 93-103.

268. Sanclemente G., Garcia J.J., Zuleta J.J. et al. A double-blind, randomized trial of 0.05% betamethasone vs. topical catalase/dismutase superoxide in vitiligo // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2008. – Vol. 22, № 11. – P. 1359-1364.

269. Sapam R., Agrawal S., Dhali T.K. Systemic PUVA vs. narrowband UVB in the treatment of vitiligo: a randomized controlled study // *Int J Dermatol.* – 2012. – Vol. 51, № 9. – P. 1107-1115.

270. Sardana K., Verma G. Overview of Medical Therapies and Phototherapy in Vitiligo Based on Their Pathogenetic Action and the Role of Platelet-Rich Plasma // *J Cutan Aesthet Surg.* - 2018. - Vol.11(4). - P.167-168.

271. Sardi J.R. Surgical treatment for vitiligo through hair follicle grafting: how to make it easy // *Dermatol. Surg.* – 2001. – Vol. 27, № 7. – P. 685-686.

272. Shah A.N., Marfatia R.K., Saikia S.S. A Study of Noncultured Extracted Hair Follicle Outer Root Sheath Cell Suspension for Transplantation in Vitiligo // *Int. J. Trichology.* – 2016. – Vol. 8, № 2. – P. 67-72.

273. Shajil E.M., Marfatia Y.S., Begum R. Acetylcholine esterase levels in different clinical types of vitiligo in Baroda, Gujarat // *Indian J. Dermatol.* - 2006.- Vol.51.- P.289-291.

274. Sharma S., Garg V.K., Sarkar R., Relhan V. Comparative study of flip-top transplantation and punch grafting in stable vitiligo // *Dermatol. Surg.* – 2013. – Vol. 39, № 9. – P. 1376-1384.

275. Shen C., Gao J., Sheng Y. et al. Genetic Susceptibility to Vitiligo: GWAS Approaches for Identifying Vitiligo Susceptibility Genes and Loci // *Front. Genet.* – 2016. – Vol. 7. – P. 3.

276. Shenoi S.D., Srinivas C.R., Pai S. Treatment of stable vitiligo with autologous epidermal grafting and PUVA // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1997. – Vol.

36, № 5 Pt 1. – P. 802-803.

277. Shih S. Platelet-rich plasma: Potential role in combined therapy for vitiligo // *Dermatol Ther.* - 2019. - Vol.32(1):e12773.

278. Singh C., Parsad D., Kanwar A.J. et al. 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. – Vol. 169, № 2. – P. 287-293.

279. Singh H., Kumaran M.S., Bains A., Parsad D. A Randomized Comparative Study of Oral Corticosteroid Minipulse and Low-Dose Oral Methotrexate in the Treatment of Unstable Vitiligo // *Dermatology.* – 2015. – Vol. 231, № 3. – P. 286-90.

280. Singhal P., Agarwal S., Dhot P.S., Sayal S.K. Efficacy of platelet-rich plasma in treatment of androgenic alopecia // *Asian J. Transfus. Sci.* – 2015. – Vol. 9, № 2. – P. 159-162.

281. Sitek J.C., Loeb M., Ronnevig J.R. Narrowband UVB therapy for vitiligo: does the repigmentation last? // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2007. – Vol. 21, № 7. – P. 891-896.

282. Smith P.A. Intra-articular Autologous Conditioned Plasma Injections Provide Safe and Efficacious Treatment for Knee Osteoarthritis: An FDA-Sanctioned, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Clinical Trial // *Am. J. Sports Med.* – 2016. – Vol. 44, № 4. – P. 884-891.

283. Song M.S., Hann S.K., Ahn P.S. et al. Clinical study of vitiligo: comparative study of type A and type B vitiligo // *Ann. Dermatol.* - 1994. - Vol. 83 (6). - P. 22-30.

284. Speeckaert R., Speeckaert M.M., van Geel N. Why treatments do(n't) work in vitiligo: An autoinflammatory perspective // *Autoimmun. Rev.* – 2015. – Vol. 14, № 4. – P. 332-340.

285. Speeckaert R., van Geel N. Vitiligo: An Update on Pathophysiology and Treatment Options // *Am J Clin Dermatol.* – 2017. – Vol. 18, № 6. – P. 733-

744.

286. Spritz R.A. Six decades of vitiligo genetics: genome-wide studies provide insights into autoimmune pathogenesis // *J. Invest. Dermatol.* – 2012. – Vol. 132, № 2. – P. 268-273.

287. Spritz R.A., Andersen G.H. Genetics of Vitiligo // *Dermatol. Clin.* – 2017. – Vol. 35, № 2. – P. 245-255.

288. Suthar M., Gupta S., Bukhari S., Ponemone V. Treatment of chronic non-healing ulcers using autologous platelet rich plasma: a case series // *J. Biomed. Sci.* – 2017. – Vol. 24, № 1. – P. 16.

289. Takata T., Tarutani M., Sano S. A failure in endothelin-1 production from vitiligo keratinocytes in response to ultraviolet B irradiation // *J. Dermatol. Sci.* – 2013. – Vol. 71(3). – P. 210-212.

290. Taieb A., Alomar A., Bohm M. et al. Guidelines for the management of vitiligo: the European Dermatology Forum consensus // *Br. J. Dermatol.* – 2013. – Vol. 168, № 1. – P. 5-19.

291. Taieb A., Picardo M. Clinical practice. Vitiligo // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360, № 2. – P. 160-169.

292. Taieb A., Picardo M., Members V. The definition and assessment of vitiligo: a consensus report of the Vitiligo European Task Force // *Pigment Cell Res.* – 2007. – Vol. 20, № 1. – P. 27-35.

293. Tembhre M.K., Sharma V.K., Sharma A. et al. T helper and regulatory T cell cytokine profile in active, stable and narrow band ultraviolet B treated generalized vitiligo // *Clin. Chim. Acta.* – 2013. – Vol. 424. – P. 27-32.

294. Terazawa S., Nakajima H., Fukasawa K. et al. Withaferin A abolishes the stem cell factor-stimulated pigmentation of human epidermal equivalents by interrupting the auto-phosphorylation of c-KIT in human melanocytes // *Arch. Dermatol. Res.* – 2015. – Vol. 307 (1). – P. 73-88.

295. Thannickal V.J., Day R.M., Klinz S.G. et al. Ras-dependent and -independent regulation of reactive oxygen species by mitogenic growth factors and TGF-beta1 // *FASEB J.* – 2000. – Vol. 14 (12). – P. 1741-1748.

296. Toosi S., Orlow S.J., Manga P. Vitiligo-inducing phenols activate the unfolded protein response in melanocytes resulting in upregulation of IL6 and IL8 // *J. Invest. Dermatol.* – 2012. – Vol. 132, № 11. – P. 2601-2609.

297. Vallerand I.A., Lewinson R.T., Parsons L.M. et al. Vitiligo and major depressive disorder: A bidirectional population-based cohort study // *J Am Acad Dermatol.* - 2019. - Vol.80(5). - P.1371-1379.

298. van Buul G.M., Koevoet W.L., Kops N. et al. Platelet-rich plasma releasate inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes // *Am. J. Sports Med.* – 2011. – Vol. 39, № 11. – P. 2362-2370.

299. van den Boorn J.G., Jakobs C., Hagen C. et al. Inflammasome-Dependent Induction of Adaptive NK Cell Memory // *Immunity.* – 2016. – Vol. 44, № 6. – P. 1406-1421.

300. van den Boorn J.G., Konijnenberg D., DelleMijn T.A. et al. Autoimmune destruction of skin melanocytes by perilesional T cells from vitiligo patients // *J. Invest. Dermatol.* – 2009. – Vol. 129, № 9. – P. 2220-2232.

301. Van Den Bossche K., Naeyaert J.M., Lambert J. The quest for the mechanism of melanin transfer // *Traffic.* - 2006. - Vol.7(7). - P.769-778.

302. van Geel N., Speeckaert M., Brochez L. et al. Clinical profile of generalized vitiligo patients with associated autoimmune/autoinflammatory diseases // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2014. – Vol. 28, № 6. – P. 741-746.

303. van Geel N., Speeckaert R., Mollet I. et al. In vivo vitiligo induction and therapy model: double-blind, randomized clinical trial // *Pigment Cell Melanoma Res.* – 2012. – Vol. 25, № 1. – P. 57-65.

304. Vandercappellen J., Van Damme J., Struyf S. The role of the CXC chemokines platelet factor-4 (CXCL4/PF-4) and its variant (CXCL4L1/PF-4var) in inflammation, angiogenesis and cancer // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2011. – Vol. 22, № 1. – P. 1-18.

305. Vanscheidt W., Hunziker T. Repigmentation by outer-root-sheath-derived melanocytes: proof of concept in vitiligo and leucoderma // *Dermatology.* – 2009. – Vol. 218, № 4. – P. 342-343.

306. Vasistha L.K., Singh G. Vitiligo and intralesional steroids // *Indian J Med Res.* – 1979. – Vol. 69. – P. 308-311.
307. Vrijman C., Kroon M.W., Limpens J. et al. The prevalence of thyroid disease in patients with vitiligo: a systematic review // *Br. J. Dermatol.* – 2012. – Vol. 167, № 6. – P. 1224-1235.
308. Wan P., Hu Y., He L. Regulation of melanocyte pivotal transcription factor MITF by some other transcription factors // *Mol Cell Biochem.* - 2011. - Vol.354 (1-2). -P.241-246.
309. Wang E., Koo J., Levy E. Intralesional corticosteroid injections for vitiligo: a new therapeutic option // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2014. – Vol. 71, № 2. – P. 391-393.
310. Wang S., Zhou M., Lin F. et al. Interferon-g induces senescence in normal human melanocytes // *PLoS One.* - 2014. - Vol.9(3):e93232
311. Wang X.X., Wang Q.Q., Wu J.Q. et al. Increased expression of CXCR3 and its ligands in patients with vitiligo and CXCL10 as a potential clinical marker for vitiligo // *Br. J. Dermatol.* – 2016. – Vol. 174, № 6. – P. 1318-1326.
312. Wang Z., Zhang H., Xu X. et al. bFGF inhibits ER stress induced by ischemic oxidative injury via activation of the PI3K/Akt and ERK1/2 pathways // *Toxicol Lett.* - 2012. -Vol.212(2).- P.137-146.
313. Webb K.C., Tung R., Winterfield L.S. et al. Tumour necrosis factor-alpha inhibition can stabilize disease in progressive vitiligo // *Br. J. Dermatol.* – 2015. – Vol. 173, № 3. – P. 641-650.
314. Weber S.C., Kauffman J.I., Parise C. et al. Platelet-rich fibrin matrix in the management of arthroscopic repair of the rotator cuff: a prospective, randomized, double-blinded study // *Am. J. Sports Med.* – 2013. – Vol. 41, № 2. – P. 263-270.
315. Weibrich G., Kleis W.K., Hafner G. et al. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank // *Clin. Oral Implants Res.* – 2003. – Vol. 14, № 3. – P. 357-362.

316. Westerhof W., Nieweboer-Krobotova L. Treatment of vitiligo with UV-B radiation vs topical psoralen plus UV-A // *Arch. Dermatol.* - 1997. - Vol.133. - P.1525-1528.
317. Westerhof W., d'Ischia M. Vitiligo puzzle: the pieces fall in place // *Pigment. Cell Res.* - 2007. - Vol.20(5). - P.345-359.
318. Whitton M., Pinart M., Batchelor J.M. et al. Evidence-based management of vitiligo: summary of a Cochrane systematic review // *Br. J. Dermatol.* – 2016. – Vol. 174, № 5. – P. 962-969.
319. Wolkerstorfer A. The long road to valid outcomes in vitiligo // *Br J Dermatol.* - 2019. - Vol.180(3). - P.454-455.
320. Wrotniak M., Bieleck T., Gadzik T.S. Current opinion about using the platelet rich gel in orthopedics and trauma surgery // *Orthop. Traumatol. Rehabil.* - 2007. - Vol.9. - P.227-238.
321. Wu J., Zhou M., Wan Y. et al. CD8+ T cells from vitiligo perilesional margins induce autologous melanocyte apoptosis // *Mol. Med. Rep.* - 2013. - Vol.7(1).- P.237-241.
322. Xie H., Zhou F., Liu L. et al. Vitiligo: How do oxidative stress-induced autoantigens trigger autoimmunity? // *J. Dermatol. Sci.* – 2016. – Vol. 81, № 1. – P. 3-9.
323. Xie X., Zhang C., Tuan R.S. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair // *Arthritis Res. Ther.* – 2014. – Vol. 16, № 1. – P. 204.
324. Yang L., Wei Y., Sun Y. et al. Interferon-gamma Inhibits Melanogenesis and Induces Apoptosis in Melanocytes: A Pivotal Role of CD8+ Cytotoxic T Lymphocytes in Vitiligo // *Acta Derm. Venereol.* – 2015. – Vol. 95, № 6. – P. 664-670.
325. Yang Y., Li S., Zhu G. et al. A similar local immune and oxidative stress phenotype in vitiligo and halo nevus // *J. Dermatol. Sci.* – 2017. – Vol. 87, № 1. – P. 50-59.
326. Yao L., Liu Y., Song Y. et al. Successful Treatment of Stable Vitiligo

by Low-Density Cultured Autologous Melanocyte Transplantation Combined With Narrowband Ultraviolet B Therapy // *Dermatol. Surg.* – Epub 2017 Apr 24.

327. Yones S.S., Palmer R.A., Garibaldinos T.M., Hawk J.L. Randomized double-blind trial of treatment of vitiligo: efficacy of psoralen-UV-A therapy vs Narrowband-UV-B therapy // *Arch. Dermatol.* – 2007. – Vol. 143, № 5. – P. 578-584.

328. Yu H.S., Chang K.L., Yu C.L. et al. Alterations in IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF-alpha, and IFN-gamma release by peripheral mononuclear cells in patients with active vitiligo // *J. Invest. Dermatol.* - 1997. - Vol.108 (4).- P.527-529.

329. Yu R., Broady R., Huang Y. et al. Transcriptome analysis reveals markers of aberrantly activated innate immunity in vitiligo lesional and non-lesional skin // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, № 12. – P. e51040.

330. Yu W., Wang J., Yin J. Platelet-rich plasma: a promising product for treatment of peripheral nerve regeneration after nerve injury // *Int. J. Neurosci.* – 2011. – Vol. 121, № 4. – P. 176-180.

331. Zhang M., Park G., Zhou B., Luo D. Applications and efficacy of platelet-rich plasma in dermatology: A clinical review // *J Cosmet Dermatol.* - 2018. - Vol.17(5). - P.660-665.

332. Zhang Z., Xu S.X., Zhang F.Y. et al. The analysis of genetics and associated autoimmune diseases in Chinese vitiligo patients // *Arch. Dermatol. Res.* – 2009. – Vol. 301, № 2. – P. 167-173.

333. Zhou L., Shi Y.L., Li K. et al. Increased circulating Th17 cells and elevated serum levels of TGF-beta and IL-21 are correlated with human non-segmental vitiligo development // *Pigment Cell Melanoma Res.* – 2015. – Vol. 28, № 3. – P. 324-329.