

На правах рукописи

Мельникова
Юлия Геннадьевна

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

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

14.01.10 - кожные и венерические болезни

Москва 2019

Работа выполнена в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Ломоносов Константин Михайлович

Официальные оппоненты:

Корсунская Ирина Марковна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук, лаборатория физико-химических и генетических проблем дерматологии, заведующая лабораторией;

Уджуху Владислав Юсуфович – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, педиатрический факультет, кафедра дерматовенерологии, профессор кафедры

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России

Защита диссертации состоится «___» _____ 2019 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.040.10 на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте <http://sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 20___ г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Витилиго представляет собой 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 C., 2019; Kyriakis K.P. et al., 2009], которое встречается у 0,5-1% мировой популяции [Cesar Silva de Castro C., Miot H.A., 2018; Taieb A. et al., 2007].

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 [Глиш 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].

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.

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

3. 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.

4. 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 опубликованы 5 печатных работ, 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, 1 публикация в журнале индексируемом базой Scopus .

Личный вклад автора в получении результатов. Автор самостоятельно разработал дизайн и программу исследования, принимал участие в обследовании и лечении 96 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования.

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 - 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 ультрафиолетовое облучение.

Для сравнения лабораторных показателей 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.

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

Лабораторные исследования 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 (VEGF) и изучение концентраций цитокинов - интерлейкинов-1, 6, 8, 10, фактора некроза опухоли-альфа.

Проводилось также определение меланина в пораженных участках кожи.

Клиническую эффективность использованных методов терапии 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 на площади 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 оценивали отдаленные результаты терапии на основании оценки стойкости образовавшейся в процессе фототерапии пигментации и выявления отсутствия прогрессирования заболевания.

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-311 нм. и обогащенной тромбоцитами плазмы.

Осуществляли инъекционное введение ОТП (аутоплазмы) в ткани пациентов. Процедура включала забор крови, получение аутоплазмы, введение ее пациенту. Забор крови осуществляли стандартно, с помощью периферического венозного катетера либо иглы большого диаметра, чтобы не повредить форменные элементы крови. Объем крови обычно составлял 35-50 мл и не зависел от предполагаемой площади введения. После

забора кровь помещали в стандартные стерильные пробирки, содержащие антикоагулянт. Для получения ОТП кровь подвергали центрифугированию.

Далее проводили внутрикожные инъекции полученного плазменного концентрата с помощью внутрикожных инъекций. Пациентам основной группы проводили по 5-7 процедур с интервалом 10-14 дней.

Методы исследования. *Цитокиновый статус* больных витилиго изучали с помощью иммуноферментного анализа с использованием соответствующих моноклональных антител, иммобилизованных на поверхности лунок полистиролового планшета из наборов тест-систем «ИФА-БЕСТ».

В ходе определения оценивали концентрацию основных провоспалительных цитокинов и фактора роста эндотелия сосудов в сыворотке крови пациентов с витилиго.

Для 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 MX 18. Принцип метода заключается в том, что электромагнитные волны инфракрасной частоты (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.

Качество жизни пациентов оценивали с помощью дерматологического индекса качества жизни (ДИКЖ), для этого проводили анкетирование больных. Анкетирование проводили до и после лечения спустя 6 и 12 мес.

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. При анализе качественных показателей рассчитывали частоту встречаемости признаков в процентах.

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

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

Клиническая характеристика больных. Обследовано 96 больных витилиго в возрасте от 20 до 59 лет, средний возраст $38,5 \pm 17,3$ лет с длительностью заболевания от 6 месяцев до 22 лет. В группе 1 (УФБ) доля больных мужского пола составила 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 и возрасту выявлено не было ($p > 0,05$).

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%).

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 - у 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 %).

Длительность витилиго менее 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.

Наиболее частой была локализация процесса было на 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.

Сравнительная оценка эффективности различных методов лечения витилиго показала, что на фоне инъекций ОТП полный эффект лечения был достигнут в 12,5% случаев (у 4 больных), в группе 1 (УФБ) достижение полного эффекта наблюдалось — у 25% (9 пациентов), в группе 3 (УФБ+ОТП) частота достижения полного эффекта была существенно выше - 14 случаев (50%).

Частота выраженного (от 51 до 99%) эффекта от терапии также была выше у больных первой и третьей групп, где значения показателя составили соответственно 58,3% и 69,2 % против 37,5% случаев в группе 2 (ОТП).

Абсолютное количество больных с выраженным эффектом проведенного лечения в группе 1 (УФБ) составило 21 человек, в группе 2 (ОТП) - 12, в группе 3 (УФБ+ОТП) - 25.

Умеренный и слабый эффект проводимой терапии, наблюдался в группе 2 (ОТП) у 4 пациентов, и 2 пациентов из 1 группы (УФБ) соответственно, что составляло 12,5% и 5,5%, в третьей группе отмечалось у 2 пациентов (7,4 %) с подобной выраженностью эффекта лечения витилиго.

Отсутствие эффекта наблюдалось в группе 1 (УФБ) у 1 пациента (2,7 %), в группе 2 (ОТП) - у двух больных (6,25 %), тогда как в группе 3 (УФБ+ОТП) таких случаев не было.

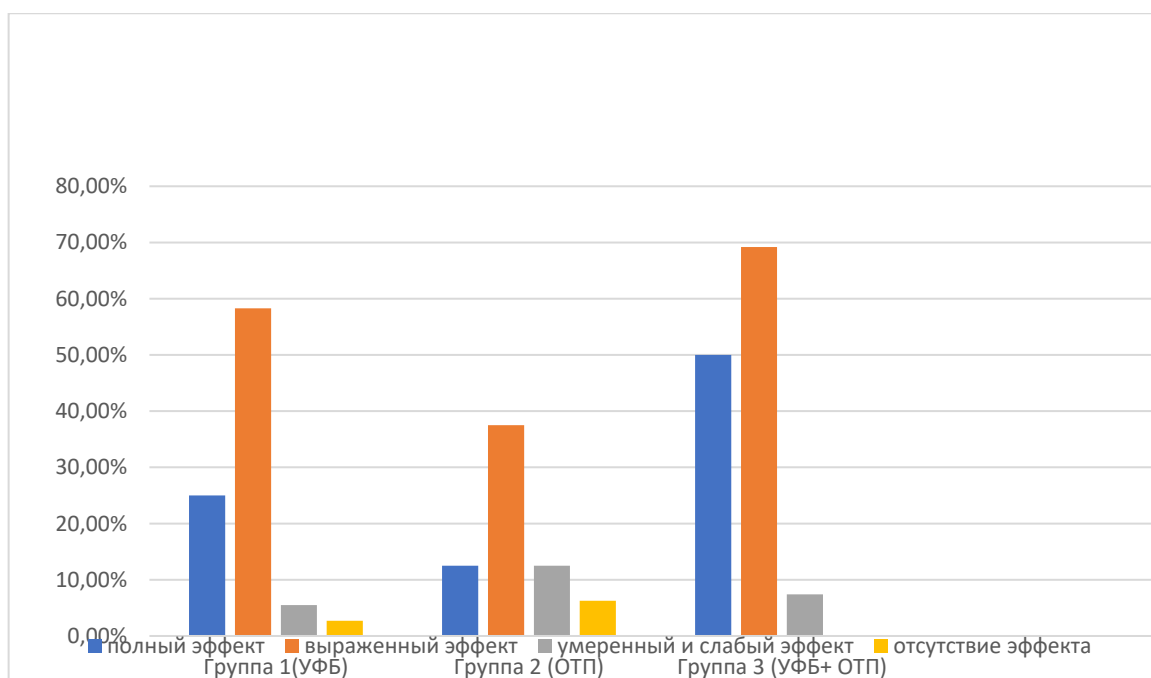


Рисунок 1 – Сравнительная оценка эффективности лечения больных витилиго

Таким образом, терапия ОТП в настоящем исследовании показала высокую эффективность. 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).

Изучение динамики уровней цитокинов у больных витилиго при различных подходах к лечению показало, что до лечения средние уровни ИЛ-1 в группах 1, 2, 3 были сопоставимы между собой ($p>0,05$), при этом превышали средний уровень ИЛ-1 в сыворотке крови обследуемых контрольной группы, который был равен $2,8\pm 0,4$ пг/мл (рисунок 2).

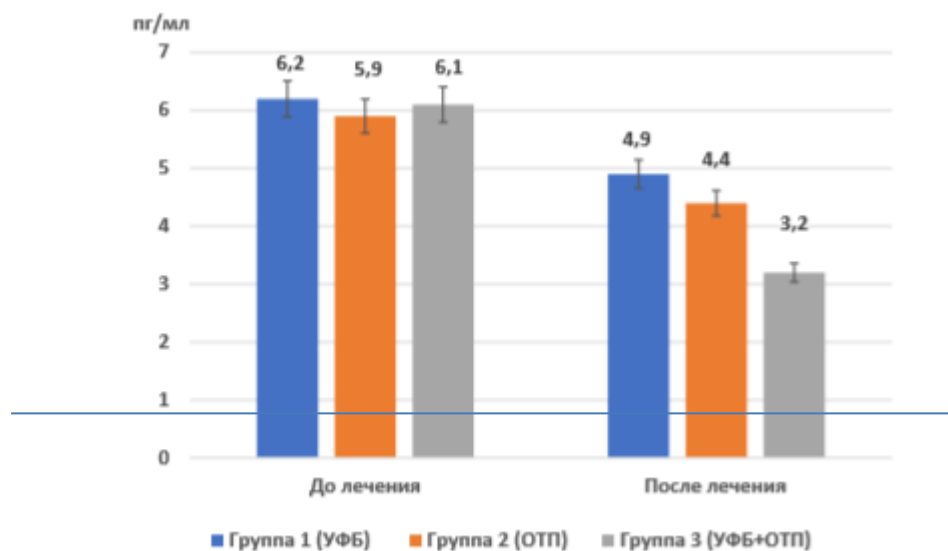


Рисунок 2 – Концентрация ИЛ-1 в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

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 у лиц контрольной группы, однако в группе 3 уровень этого цитокина был достоверно ниже, чем в группах 1 и 2 ($p<0,05$). 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 исходными значениями 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 $6,1\pm 1,3$ пг/мл - у пациентов группы 3

(УФБ+ОТП) (рисунок 3). 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.

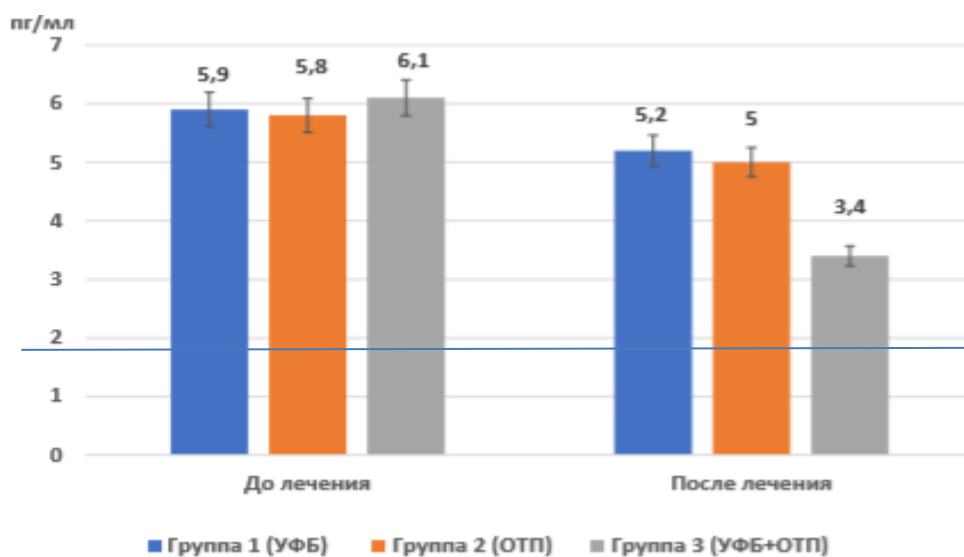


Рисунок 3 – Концентрация ИЛ-6 в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

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 концентраций 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 достоверно ниже ($p<0,05$), чем в других группах.

Средний уровень ИЛ-8 в группе 1 (УФБ) составил $7,4\pm 0,5$ пг/мл (рисунок 4). 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 значение показателя в группе контроля - $4,1\pm 1,5$ пг/мл.

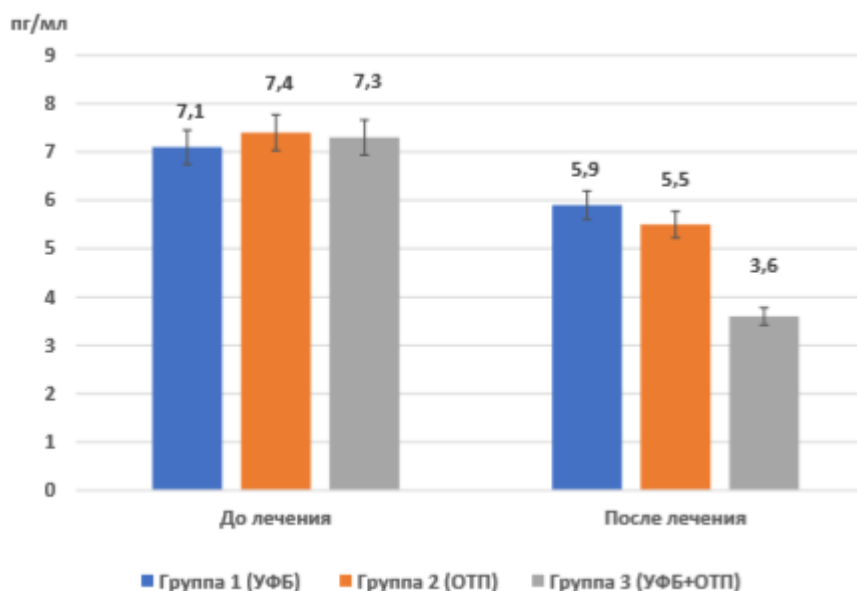


Рисунок 4 – Концентрация ИЛ-8 в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

После проведенного лечения во всех группах пациентов с витилиго отмечалось снижение концентрации этого цитокина, значения показателя достоверно уменьшились 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) концентрация ИЛ-8 снизилась 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 концентраций 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)

значение этого параметра было достоверно ниже, чем в группах 1 и 2 и составило $5,2 \pm 0,4$ пг/мл.

Уровни 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 5). Достоверных межгрупповых различий концентраций 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).

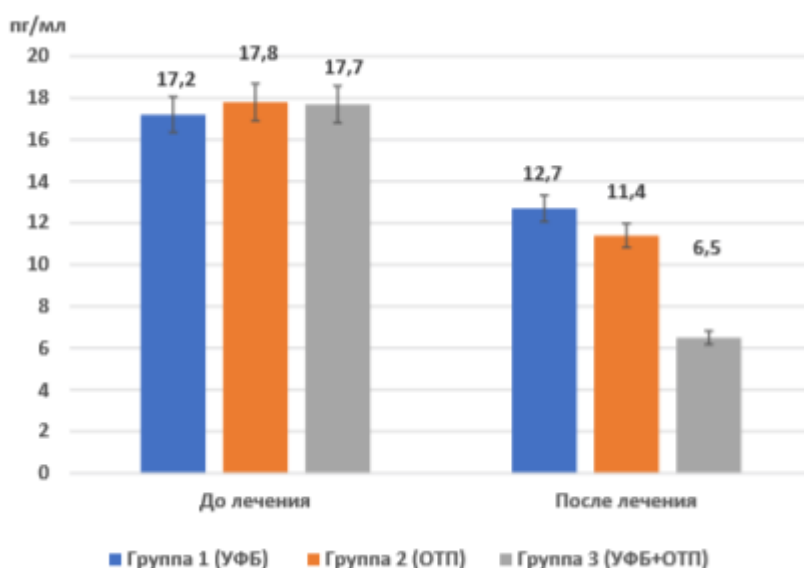


Рисунок 5 – Концентрация ФНО-альфа в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

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, при этом статистически значимо не отличалось от такового в контрольной группе.

Динамика уровня сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в сыворотке крови представлена на рисунке 6. Установлено, что исходные концентрации этого фактора до начала лечения в группах исследования были сопоставимы ($p > 0,05$),

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.

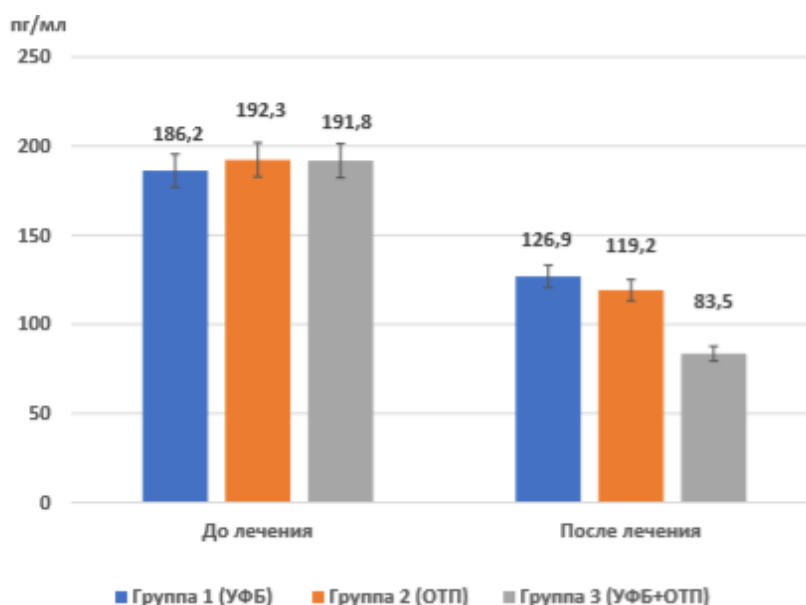


Рисунок 6 – Концентрация сосудистого эндотелиального фактора в сыворотке (пг/мл) до и после лечения в группах больных

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 ($p < 0,05$).

Следует отметить, что несмотря на значимое снижение уровня VEGF в обеих группах исследования, соответствующие значения данного показателя оставались повышенными по сравнению с концентрацией VEGF в контрольной группе.

Результаты оценки уровней меланина в очагах поражения до начала и после проведенного лечения приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Уровни меланина (ед.) в очагах поражения различной локализации до и после лечения в группах больных витилиго

Сроки исследования	Неизмененная кожа	Группа 1 (УФБ) n=36	Группа 2 (ОТП) n=32	Группа 2 (УФБ+ОТП) n=28
Лицо, шея				
До лечения	234±10	105±4	103±9	106±8
После лечения		208±12#	217±14#	248±12#
Грудь, живот				
До лечения	226±8	95±7	92±5	94±7
После лечения		196±25#	205±21#	237±12*#

Примечание: * – различия достоверны (при $p < 0,05$) относительно соответствующих показателей в группах 1 и 2 (по критерию Манна-Уитни);
– различия достоверны (при $p < 0,05$) относительно соответствующего показателя до лечения (по критерию Вилкоксона)

Установлено, что в очагах витилиго на лице и шее 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 содержание пигмента у пациентов групп 1 и 2 после проведенной терапии существенно не различалось и составило 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 показателя контроля.

Аналогичная динамика уровней меланина в коже 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 его уровень

был значительно снижен, составив в группах 1, 2 и 3 соответственно 95 ± 7 , 92 ± 5 и 94 ± 7 Ед. Группы исследования были сопоставимы по средним значениям показателя до начала терапии.

После проведенного 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 больных витилиго, но при этом не отличался от контроля.

Изучение качества жизни пациентов с витилиго, оцененного с применением опросника «Дерматологический индекс качества жизни», показал, что 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 (рисунок 7). Уровни ДИКЖ во всех группах были значительно выше контрольного уровня, что свидетельствовало о снижении качества жизни обследованных пациентов.

После проведенного лечения в течение 6 месяцев было достигнуто существенное снижение показателей 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 групп 1 (УФБ) и 2 (ОТП), где средние значения этого показателя снизились только до $7,6\pm 2,3$ и $7,2\pm 1,7$ балла, соответственно.

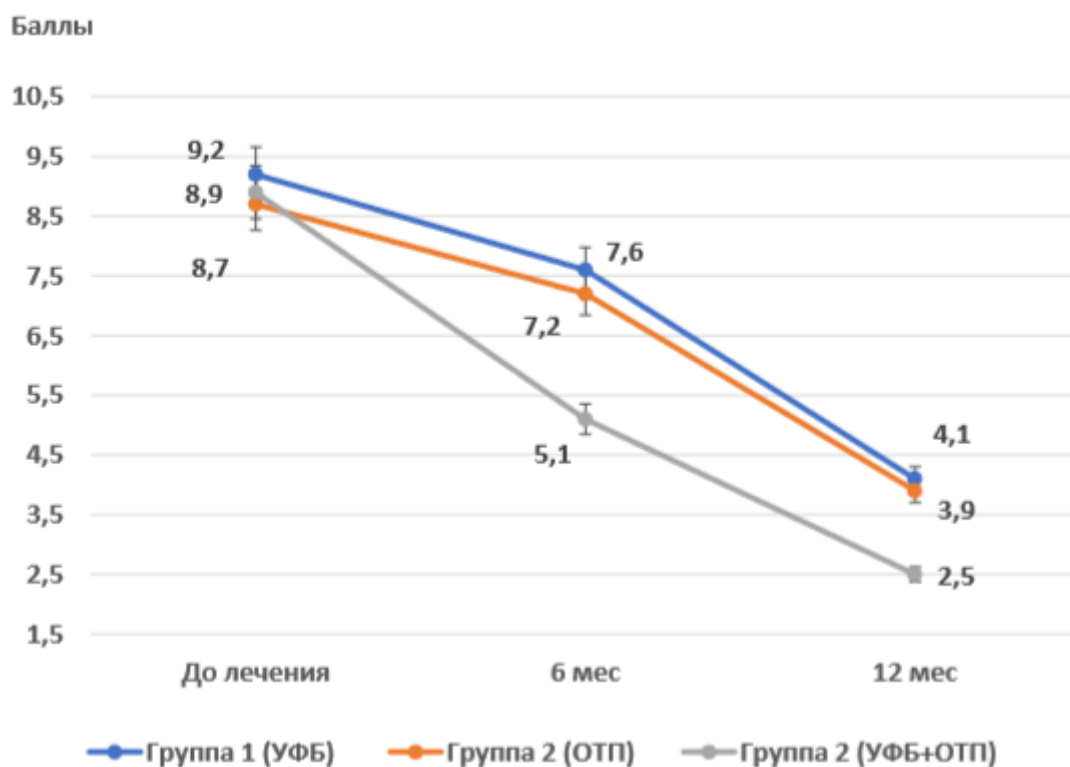


Рисунок 7 – Динамика показателя ДИКЖ после курса лечения витилиго

При сравнении показателей 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, хотя динамика показателя во всех группах была статистически значимой ($p < 0,05$) относительно исходных уровней оценки качества жизни больных 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.

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.

2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. 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

1. 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.

2. Лечение пациентов с витилиго с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы рекомендуется проводить по использованной в работе схеме применения метода.

3. 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Gereykhanova, L.G. The role of viruses in the pathogenesis of vitiligo (hypothesis) / L.G.Gereykhanova, **Y.G.Melnikova**, K.A.Myzina, K.M.Lomonosov // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – Vol.7 (5). – P.3087-3090.

2. Герейханова, Л.Г. Результаты кислородно-озоновой терапии витилиго / Л.Г. Герейханова, К.М. Ломоносов, **Ю.Г. Мельникова** // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2017. - № 5. – С.290-292.

3. **Мельникова Ю.Г.** Опыт применения богатой тромбоцитами аутоплазмы в лечении витилиго / К.М. Ломоносов, **Ю.Г. Мельникова** // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2018. - №2. – С.58.

4. **Мельникова Ю.Г.** Инвазивные методы лечения витилиго (обзор) / **Ю.Г. Мельникова**, К.М. Ломоносов, Л.Г. Герейханова // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2018. - №21 (2). – С.113-119.

5. **Мельникова Ю.Г.** Оценка клинической эффективности применения богатой трромбцитами плазмы в лечении витилиго / **Ю.Г. Мельникова**, К.М. Ломоносов, Л.Г. Герейханова // **РМЖ (Русский Медицинский Журнал). Медицинское обозрение**. – 2018. - № 5. – С.51-54.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДИКЖ - дерматологический индекс качества жизни

ИЛ - интерлейкин

ОТП - обогащенная тромбоцитами плазма

УФ - ультрафиолетовое (излучение)

ФНО - фактор некроза опухоли

VEGF - сосудистый эндотелиальный фактор роста