

Chirurgická léčba vitiliga transplantací nekultivovaných autologních melanocytů – naše zkušenosti

MUDr. Evžen Trupar¹, prof. MUDr. Pavel Brychta, CSc.¹, Jana Komárková²

¹Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie, Fakultní nemocnice Brno

²Tkáňová banka, Fakultní nemocnice Brno

Vitiligo patří mezi idiopatické poruchy pigmentace, kauzální léčba dosud není možná a konzervativní terapie je u řady pacientů neúčinná. U pacientů s anamnézou neúspěšné konzervativní terapie je v řadě případů účinná terapie chirurgická. V posledních letech se objevují různé modifikace chirurgické léčby od transplantace autologní kůže v plné tloušťce až po transplantaci samotných melanocytů expandovaných kultivací. V článku je popsána chirurgická terapie vitiliga transplantací autologních nekultivovaných melanocytů s použitím fibrinového lepidla jako buněčného nosiče. Popsaná metoda spočívá v odběru dermoepidermálního štěpu, jeho následném enzymatickém rozvolnění na jednotlivé buňky účinkem trypsinu a aplikaci směsi buněk ve fibrinovém lepidle na depigmentovanou kožní lézi připravenou k přijetí melanocytů ablací epidermis CO₂ laserem. Touto metodou jsme ošetřili 13 pacientů se stabilním vitiligem, k pigmentaci došlo u 5 pacientů.

Klíčová slova: vitiligo, chirurgická terapie vitiliga, transplantace autologních melanocytů.

Surgical treatment of vitiligo of non-cultivated autologous melanocytes transplantation – our experience

Vitiligo belongs to the idiopathic disorders of skin pigmentation. Causal treatment is impossible for now and conservative treatment is ineffective with most patients. The surgical treatment can be effective with some patients with the history of ineffective conservative treatment. Many modifications of surgical treatment of vitiligo have appeared during the past few years, from transplantation of fullthickness skin grafts till transplantation of melanocytes expanded by cultivation. The surgical treatment of vitiligo by grafting of autologous noncultured melanocytes in fibrin glue which is used as a cell carrier is described in this article. This method is based on grafting of dermoepidermal graft and its incubation with trypsin. The skin cells suspension which is obtained after the trypsination is then applied into a mixture with fibrin glue onto depigmented vitiliginous skin previously dermabraded by CO₂ laser. We used this method for treatment at 13 patients with stabile vitiligo, pigmentation was achieved at 5 patients.

Key words: vitiligo, surgical treatment of vitiligo, transplantation of autologous melanocytes.

Dermatol. praxi 2010; 4(4): 217–220

Úvod

Vitiligo je získané idiopatické onemocnění, které se klinicky projevuje tvorbou ostře ohraničených bílých ložisek přítomných na sliznicích, slizničních přechodech a na kůži. Prevalence onemocnění se celosvětově pohybuje okolo 1–2 % s regionálními rozdíly (0,14–8,8 %) (1). Postihuje všechny rasy a obě pohlaví, častěji se vyskytuje u žen a u řady nemocných lze nalézt familiérní výskyt. Etiologie tohoto onemocnění je složitá a dosud nebyla spolehlivě objasněna, o čemž svědčí množství teorií zaměřených na příčiny a způsoby destrukce melanocytů u vitiliga (2). Vitiligo je převážně onemocněním psychosociálním, pacienti postižení vitiligem jsou zřetelně stigmatizováni a trpí hlavně psychicky v souvislosti s narušením interpersonálních kontaktů. Neméně závažná je však i narušená ochrana kůže před UV zářením.

Současná terapie vitiliga zahrnuje jak postupy konzervativní tak chirurgické. Cílem léčby je repigmentace achromických ložisek z kosme-

tických důvodů a obnova ochrany kůže před UV zářením. Výběr léčebné metody se odvíjí od rozsahu onemocnění, předcházející léčby a od očekávání pacienta. Obecně platí, že konzervativní terapie, která zahrnuje léčbu lokální, systémovou a fyzikální (2), by měla chirurgické terapie vždy předcházet. Všechny druhy chirurgické terapie vitiliga jsou založeny na transplantaci autologních melanocytů do achromických ložisek v různých podobách. Liší se ve způsobech získání autologních melanocytů a ve formách jejich transplantace. Jedná se o tyto formy transplantací: přenos kožních štěpů v plné tloušťce, epidermálních štěpů a samotných melanocytů (event. i expandovaných kultivací). Úspěšnost chirurgické terapie nelze u pacientů s jistotou předvídat, lze ji však zvýšit výběrem pacientů dle dnes již obecně uznávaných vstupních kritérií pro chirurgickou léčbu vitiliga, jsou to (3, 4):

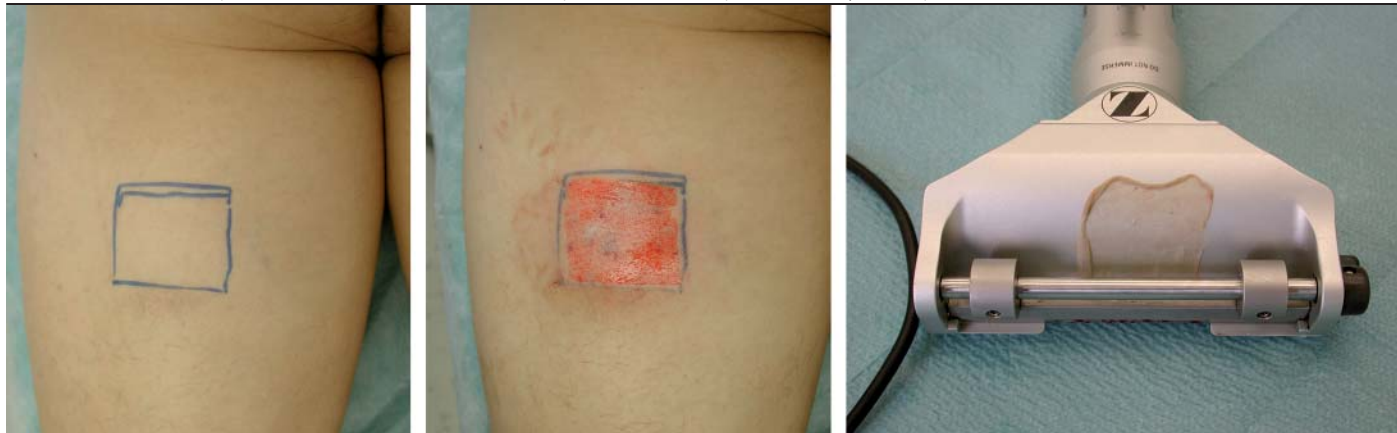
- a) pacienti nereagující na konzervativní terapii
- b) pacienti s lézemi stabilními nejméně 1 rok na ploše do 30 % tělesného povrchu

- c) pacienti bez známek hojení hypertrofickou nebo keloidní jizvou v osobní anamnéze
- d) pozitivní minigraft test (5, 6)
- e) pacienti bez přítomnosti Koebnerova fenoménu
- f) pacienti starší 12 let

Ze škály chirurgických metod jsme se zaměřili na přenos nekultivovaných melanocytů, především pro menší ekonomickou náročnost. Metoda, kterou jsme použili je modifikovaný postup, který publikoval v roce 2001 Nanny Van Gell a spolupracovníci (Ghent, Belgie) (7). Modifikace spočívala v použití fibrinového lepidla Tissucol® (Baxter AG) jako buněčného nosiče k uchování vitálních melanocytů při jejich vlastní transplantaci. Touto metodou jsme ošetřili 13 pacientů se stabilním vitiligem.

Materiál a metodika

Všichni pacienti, kteří podstoupili tuto chirurgickou terapii, byli standardně fyzikálně vyšetřeni

Obrázek 1. Odběrová plocha na zadní straně stehna, těsně po odběru DE štěpu a odebraný DE štěp**Obrázek 2.** Lokalizované vitiligo pod kolenem vlevo, ablace epidermis CO₂ laserem

a byla jim odebrána anamnéza s ohledem na dosavadní léčbu vitiliga (v kolika letech vznikla první léze, dosavadní terapie, problémy s kožním hojením, přítomnost vitiliga v rodině, onemocnění často asociovaná s vitiligem atd.). Pacienti měli léze stabilní nejméně rok a v minulosti podstoupili konzervativní terapii bez léčebného efektu, ošetřené ženy nesměly být těhotné a nesměly kojít.

Celkem jsme ošetřili 13 pacientů ve věku od 15 do 36 let (10 žen a 3 muže). Průměrná doba vzniku vitiliga u pacientů byla 10,2 let věku, nejmladší pacient měl 15 let, nejstarší 36 let, průměrný věk pacientů byl 26,8 let. Největší ošetřená jednotlivá léze měla velikost 42,7 cm², nejmenší 0,8 cm². U 2 pacientů byla ošetřena 1 léze, u 6 pacientů 2 léze, u 3 pacientů 3 léze a u 2 pacientů 4 léze.

Základní byl proveden u všech pacientů během jednoho dne, skládal se ze tří na sebe navazujících kroků. Krok 1 – odběr dermoepidermálního štěpu, krok 2 – zpracování štěpu v buněčné laboratoři, krok 3 – transplantace kožních buněk.

Krok 1 – odběr dermoepidermálního štěpu

S ohledem na možné riziko depigmentace, či hyperpigmentace místa odběru byla jako donorská oblast u všech pacientů zvolena zadní

strana stehna pod gluteofemorální rýhou, nebo hýždě. Podmínkou byla normální pigmentace kůže v místě odběru. Odběr dermoepidermálního štěpu byl u všech pacientů proveden v lokální anestezii (1% mesocain s adrenalinem 3 gtt/10 ml mesocainu) elektrodermatomem značky Zimmer. Velikost odebraného štěpu u všech pacientů byla 20–25 cm², tloušťka štěpu byla 0,6–0,8 mm (obrázek 1).

Odběrová plocha byla po odběru kryta mastným tylem (Sanavel) a sterilním mulem, nebo neadherentním krytím Melolin (Smith & Nephew) a ponechána bez převazu do úplného zhojení. Dermoepidermální štěp byl bezprostředně po odběru uložen do transportního média MEM ve sterilní nádobě a transportován do buněčné laboratoře k dalšímu zpracování. Současně se vzorkem kůže byla do laboratoře odeslána průhledná folie se zakresleným obrysem achromické plochy plánované k transplantaci. Obrys achromické plochy byl zakreslen permanentním fixem na nesterilní průsvitnou folii běžně dostupnou pro kancelářské potřeby.

Krok 2 – zpracování štěpu v buněčné laboratoři

Směs autologních kožních buněk k transplantaci byla připravována z odebraného dermo-

epidermálního štěpu ve Tkáňové bance FN Brno. Odebraný štěp byl za aseptických podmínek v laminárním boxu třídy A mechanicky a následně enzymaticky rozvolněn trypsinem (Trypsin 0,25%, PAN Biotech GmbH) za stálého míchání v inkubátoru při teplotě 36,6 °C. Výsledkem tohoto procesu byl roztok obsahující jednotlivé kožní buňky. Získaná směs kožních buněk byla smísená s fibrinovým lepidlem Tissucol® (Baxter AG) a před ztuhnutím byla rozprostřena do požadovaného tvaru podle nákresu achromické plochy. Po zkušenostech s transplantací u prvních pacientů byla pro snadnější manipulaci a fixaci na těle pacienta u posledních 3 pacientů směs ponechána ke ztuhnutí na sterilní textilií. Celý proces separace kožních buněk trval přibližně 5 hodin.

Krok 3 – transplantace kožních buněk

Obnažení dermis v příjmové oblasti bylo u všech pacientů provedeno ablací epidermis CO₂ laserem v lokální anestezii 1% mesocainem. Bylo použito obvyklé nastavení laseru pro resurfacing obličej (9,33 J/cm², 14 W) (obrázek 2).

Suchá substance po laserovém resurfacingu byla z kožního povrchu setřena tamponem s antiseptickým roztokem (Octenisept® farblos

Obrázek 3. Stejná plocha jako na obrázku 2, stav po ablaci epidermis a aplikaci směsi buněk v Tissucolu



Obrázek 4. Stejná plocha jako na obrázcích 2 a 3 za 7 dní, 14 dní a 6 měsíců od zákroku



Schülke & Mayr GmbH) a na takto připravenou achromickou plochu byla aplikována směs buněk v Tissucolu. U pacientů, kde byl Tissucol s buňkami ponechán ke ztuhnutí na sterilní textilií, byla textilie fixována ke kůži několika stehy prolomenem 5–0. U ostatních pacientů bez tohoto vylepšení byl přes směs kožních buněk v Tissucolu rozprostřen mastný tyl (Sanavel), který byl rovněž v několika okrajových bodech fixován ke kůži stehy (obrázek 3).

Další krycí vrstvou byly u jedenácti pacientů sterilní čtverce nasáknuté Ringerovým roztokem, nebo neadherentí krytí TenderWet 24 (Hartmann). Vlhké čtverce nebo krytí TenderWet pacienti měnili jednou denně, ke zvlhčení obvazového materiálu používali Ringerův roztok. U dvou pacientů byla zatransplantovaná plocha kryta transparentním obvazem s vysokým obsahem vody Hydrosorb (Hartmann). Toto krytí pacienti ponechali do první kontroly bez převazu.

Výsledky

Pacienti byli zváni na kontrolu za týden, za dva týdny a za půl roku po zákroku.

Při první kontrole byla ošetřená plocha pokryta zbytky Tissucolu ve formě drobných krust na povrchu. Při druhé kontrole již byla epitelizace

dokončena s ojedinělými krustami a byla spolu se zhojenou odběrovou plochou ponechána volně (obrázek 4).

Odběrová plocha se zhojila bez potíží u jedenácti pacientů, u jednoho došlo k dočasné hyperpigmentaci a u jedné pacientky k trvalé depigmentaci (Koebnerův fenomén). Hojení transplantované plochy proběhlo bez komplikací u jedenácti ze třinácti ošetřených pacientů. U dvou pacientů, kde byl ke krytí transplantovaných ploch použit hydrosorb došlo k lehké inflamaci s následnou pozánětlivou hyperpigmentací. Úplná repigmentace (v 95–100 % léčené plochy) byla dosažena u dvou pacientů, jeden z nich měl s tímto výsledkem ošetřeny tři léze ve dvou dobách. Dobrá repigmentace (v 65–94 % léčené plochy) byla dosažena u jednoho pacienta a částečná repigmentace (v 20–64 % léčené plochy) byla dosažena u dvou pacientů. U zbývajících osmi pacientů k pigmentaci nedošlo. Celkově byla léčba úspěšná v 38,5 % v ošetřeném souboru pacientů.

S ohledem na erytém běžně přítomný při každém resurfacingu CO₂ laserem bylo hodnocení časných známek repigmentace velmi problematické. Na ztíženém hodnocení se podílela i skutečnost, že většina nemocných s vitiligem se účinně chrání před UV zářením a mají

velmi světlou kůži. Přetrvávání erytému u námi ošetřených pacientů bylo individuální, zpravidla 2–3 měsíce, první pigmentace byly patrné za 5–6 týdnů po ošetření. V případě úspěšné léčby došlo s postupem času k vymizení erytému a k produkci melaninu (obrázek 5).

Pro stimulaci repigmentace byla pacientům po zhojení ošetřených lézí doporučena fototerapie, kterou podstoupili pouze čtyři pacienti přibližně 4 týdny po operaci. Ostatní pacienti fototerapii nepodstoupili z důvodu špatné dostupnosti této terapie v místě jejich bydliště. U tří ze čtyř pacientů, kteří podstoupili fototerapii, ošetřené léze zpigmentovaly.

Závěr

Většina pacientů, u nichž došlo k repigmentaci, byla s výsledkem ošetření spokojena. Pacienti akceptovali výsledek léčby i přes případnou nehomogenitu pigmentu v ošetřených lézích. Uniformní rozložení pigmentu v případě repigmentace nelze zaručit a pacienty je potřeba na tuto skutečnost upozornit. Obecně nejdůležitějším předpokladem úspěšné chirurgické terapie vitiliga je stabilita onemocnění. Pro stabilitu onemocnění svědčí především unilateralita onemocnění, léze bez známek progresu za poslední dva roky, spontánní repigmentace, pozitivní

Obrázek 5. Léze pravého lokte před léčbou, erytém ve zhojené ploše 3 týdny po zákroku, lehká hyperpigmentace 6 měsíců po zákroku



Obrázek 6. Průběh pozitivního minigraft testu, původní plocha, ihned po přenosu štěpů, repigmentace 3 měsíce po transplantaci a stimulaci UV zářením



minigraft test a absence koebnerizace (výpadek pigmentu po poranění). Zvláště minigraft test by měl pomoci ve výběru pacientů vhodných k chirurgické terapii (8). Minigraft test se provádí přenosem okrsků kůže v plné tloušťce. Průběh pozitivního minigraft testu s použitím puncheru 3 mm v průměru je na obrázku 6.

Tento test v prezentovaném souboru pacientů nebyl rutinně proveden. Dle našich zkušeností je metoda vhodná spíše u vitiliga lokalizovaného na malé stabilní plochy a u pacientů splňujících kritéria pro chirurgickou terapii uvedená výše. Nevýhodou metody je omezení metody na relativně malé léze (v průměru přibližně 30 cm² během jednoho ošetření) a riziko

hypo, nebo hyperpigmentace v dárcovské oblasti. Rozšíření metody brání především nutná návaznost na buněčnou laboratoř.

Literatura

1. Mosher DB, Fitzpatrick TB, Ortonne JP, et al. Disorders of pigmentation. In: Fitzpatrick TB, Freedberg IM, editors. Fitzpatrick's dermatology in general medicine. 5th ed. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division, 1999: 945–955.
2. Pospíšilová A, Rulcová J, Vlašín Z, Hlubinka M. Konzervativní a chirurgická léčba vitiliga. Derma 3. tisícročia, Slovenská republika, Bratislava 2001; 1(1): 16–20.
3. Hartmann A, Bröcker E, Becker JC. Hypopigmentary Skin Disorders. Current Treatment Options and Future Directions. Drugs 2004; 64(1): 89–107.
4. Njoo MD, Westerhof W. Vitiligo Pathogenesis and Treatment. Am J Clin Dermatol 2001; 2(3): 167–181.

5. Falabella R, Arrunategui A, Barona MI, et al. The minigrafting test for vitiligo: detection of stable lesions for melanocyte transplantation. J Am Acad Dermatol 1995; 32: 228–232.

6. Westerhof W, Boersma B. The minigrafting test for vitiligo: detection of stable lesions for melanocyte transplantation. J Am Acad Dermatol 1995; 33: 1061–1062.

7. Van Geel N, Ongeane K, De Mil M, et al. Modified technique of autologous non-cultured epidermal cell transplantation for repigmenting vitiligo: A pilot study. Dermatol Surg 2001; 27: 873–876.

8. Falabella R. Surgical Approaches for Stable Vitiligo, Dermatol Surg 2005; 31: 1277–1284.

MUDr. Evžen Trupar

Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie, Fakultní nemocnice Brno
Jihlavská 20, 639 00 Brno
trupare@seznam.cz

