

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ



Эффективность IPL-процедур с продвинутой технологией оптимального импульса АОПТ-LTL при лечении мелазмы. Клиническое и *in vivo* исследование

Jing Wang^{1,2} | Xinlan Wang^{1,2} | Li Gu¹ | Zhinan Shi³ | Zhiyi Xu^{1,2} | Siqi Shen^{1,2} | Liqun Gu¹ | Lin Chen⁴ | Linling Ju⁴ | Chenglong Jin⁵ | Bingrong Zhou⁶ | Hui Hua¹

¹Department of Dermatology, Nantong Third People's Hospital, Affiliated Nantong Hospital 3 of Nantong University, Nantong, China | ²Medical School of Nantong University, Nantong, China | ³Department of Dermatology, Ren Ji Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, China | ⁴Nantong Institute of Liver Diseases, Nantong Third People's Hospital, Affiliated Nantong Hospital 3 of Nantong University, Nantong, China | ⁵Department of Dermatology, Suzhou Mylike Cosmetic Hospital, Suzhou, China | ⁶Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, China

Контакты авторов, ответственных за переписку: Bingrong Zhou (zhoubingrong@njmu.edu.cn) | Hui Hua (huahui@ntu.edu.cn)

Статья получена: 4 марта 2025 года, **изменена:** 30 июля 2025 года, **принята к публикации:** 1 сентября 2025 года

Финансирование: исследование проводилось при поддержке Национального фонда естественных наук Китая (National Natural Science Foundation of China) (82073472), Программы развития научных исследований и практических инноваций для аспирантов провинции Jiangsu (Postgraduate Research & Practice Innovation Program of Jiangsu Province) (SJCX23_1804), Специального исследовательского фонда Университета г. Нантунь (University Special Research Fund for Clinical Medicine) (грант 2024JZ021, 2024LQ041) и Программы по привлечению молодых талантов в области медицины города Нантунь (Nantong Young Medical Key Talent Program).

Ключевые слова: АОПТ-LTL, IPL, тучные клетки, мелазма

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценка эффективности и механизма действия продвинутой технологии оптимального импульса (АОПТ) с низкими параметрами энергии и тройным импульсом большой ширины (АОПТ-LTL) при лечении мелазмы.

Авторы: Jing Wang, Xinlan Wang и Li Gu внесли равный вклад в этот научный труд.

Эта статья находится в свободном доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution, которая разрешает использовать, распространять и воспроизводить ее в любых источниках с надлежащим указанием авторства оригинальной статьи.

© 2025 Авторы. Journal of Cosmetic Dermatology published by Wiley Periodicals LLC.

Методы. In vivo модель мелазмы у морских свинок создавали за счет инъекций прогестерона и облучения ультрафиолетом типа В. Три сеанса терапии методом АОПТ-LTL проводили один раз в неделю. Уровни экспрессии мРНК основных ферментов, участвующих в меланогенезе, воспалительных факторов, цитокинов, участвующих в ангиогенезе, и коллагенолитических протеаз выявляли методом количественного ПЦР в реальном времени (qRT-PCR). Уровень белка фактора роста стволовых клеток (SCF) и гена рецептора фактора роста тучных клеток (c-KIT) выявляли за счет иммунофлуоресцентного окрашивания и анализа методом Вестерн-блоттинг. Двадцати пациентам, страдающим мелазмой, проводили три сеанса АОПТ-LTL-терапии, по одному в месяц, после чего подсчитывали Модифицированный индекс площади и тяжести мелазмы (mMASI) и Индекс эритемы (EI).

Результаты. У морских свинок с мелазмой процедуры АОПТ-LTL эффективно уменьшали пигментацию и подавляли экспрессию основных генов, вовлеченных в процесс выработки меланина. При этом наблюдалось уменьшение инфильтрации тучных клеток, экспрессии факторов воспаления и факторов, участвующих в ангиогенезе, а также уменьшение ангиогенеза и замедление фотостарения кожи. Кроме того, процедуры АОПТ-LTL уменьшали уровень экспрессии сигнального пути SCF/c-KIT лиганд/рецептор, который тесно ассоциирован с пролиферацией и активацией тучных клеток. После трех сеансов АОПТ-LTL-терапии у пациентов, страдающих мелазмой, наблюдалось уменьшение содержания меланина, выраженности эритемы, а также снижение индексов mMASI и EI.

Выводы: процедуры АОПТ-LTL существенно улучшают состояние мелазмы за счет снижения интенсивности меланогенеза, уменьшения воспаления, ангиогенеза, инфильтрации тучных клеток и дегенерации коллагена, потенциально, за счет подавления экспрессии сигнального пути SCF/c-KIT лиганд/рецептор.

1. ВВЕДЕНИЕ

Мелазма – это приобретенная пигментация на лице, характеризующаяся крупными, симметрично расположенными на скуловой части щек, в периорбитальной зоне, на лбу, над верхней губой, на носу и других участках лица пятнами от светло-коричневого до темно-коричневого цвета, имеющими форму бабочки или неправильную форму. Частота появления мелазмы зависит от расовой и гендерной принадлежности, и особенно часто встречается у представителей темнокожих рас (40 %). Мелазма преимущественно встречается у женщин, особенно репродуктивного возраста [1], а также у молодых пациентов и лиц среднего возраста. Из-за повышенной чувствительности к ультрафиолету светлая кожа также подвержена мелазме [2].

Выражающаяся в появлении пигментации на лице, мелазма часто приводит к заниженной самооценке, создает проблемы в социальной адаптации, приносит негативные эмоции и снижает качество жизни [3], что требует разработки эффективных мер по ее предупреждению и лечению.

Патогенез заболевания сложен и ассоциируется с генетической предрасположенностью, колебаниями уровня эстрогена, длительным воздействием ультрафиолета [4–6]. Гистопатологически мелазма характеризуется гиперпигментацией на уровне дермы, гиперфункцией ме-

ланоцитов, излишней активностью меланосом, гипervasкуляризацией дермы, инфильтрацией тучных клеток и дегенерацией эластина [7–9]. Воздействие ультрафиолета стимулирует тучные клетки к формированию пигментации на лице за счет выброса гистамина и цитокинов в дерме, а также усилению пролиферации и миграции меланоцитов [10]. Кроме того, тучные клетки стимулируют пролиферацию сосудов за счет секреции проангиогенных факторов, таких как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF-2) и трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) [11].

Преыдушие исследования подтвердили влияние тучных клеток на фотостарение кожи. Трипсин, вырабатываемый тучными клетками под длительным воздействием ультрафиолетового излучения, напрямую вызывает дегенерацию эластина и опосредованно стимулирует деградацию дермального коллагена и внеклеточного матрикса через активацию проматричной металлопротеиназы [12]. Способы лечения активной мелазмы и мелазмы в стадии ремиссии различаются. Системное применение транексамовой кислоты, глицирризина и глутатиона, дополняемое поверхностным нанесением гидрохинона и его производных, третиноина, азелаиновой и транексамовой кислот являются предпочтительными в активной стадии заболевания. В ремиссии дополнительно можно проводить химический пилинг и фотоэлектротерапию. Тем не менее длительное системное и поверхностное лечение приводят к побочным эффектам, таким как нарушение коагуляции, дисфункция ЖКТ и местное раздражение [13]. Метод воздействия интенсивным импульсным светом (IPL), основанный на энергии некогерентного широкополосного света в диапазоне длин волн от 400 до 1200 нм, применяется для фототерапии пигментации, лечения сосудистых заболеваний, удаления волос и омоложения кожи [14]. IPL показал эффективность в отношении мелазмы [15, 16], хотя клиническое его применение скомпрометировано случаями повторной пигментации из-за выбора агрессивных параметров воздействия [17]. Фотобиомодуляция, основанная на применении лазерного излучения или некогерентного света, может влиять на физиологические функции. Метод характеризуется неинвазивностью, низкими параметрами энергии и нетермическим эффектом. Dai и соавт. [18] сообщали о роли фотобиомодуляции с использованием светодиодных (LED) устройств с длиной волны 590 нм для уменьшения пигментации и эритемы у пациентов, страдающих мелазмой. Наше предыдущее исследование подтвердило превосходную терапевтическую эффективность IPL в сочетании с фотобиомодуляцией при работе в инновационном режиме с использованием продвинутой технологии оптимального импульса с низкой энергией, тройным импульсом, большой продолжительностью импульса (АОПТ-LTL) при лечении розацеа [19]. Тем не менее неясно, эффективен ли этот режим в отношении мелазмы и механизм его действия на нее.

В данном исследовании мы сначала изучали эффективность АОПТ-LTL в лечении мелазмы и механизм его действия на модели морских свинок, а затем подтверждали ее на примере когорты из 20 пациентов, страдающих мелазмой.

2. МЕТОДЫ

2.1. *In vivo* модель мелазмы у морской свинки и процедуры АОПТ-LTL

Двадцать особей трехцветной морской свинки женского пола в возрасте 6–8 недель, весом 250 ± 15 граммов помещали в стерильные боксы, оборудованные мягкой подстилкой, обеспе-

чивая стандартизированные условия (температура $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, 12-часовой цикл света/темноты) пребывания, где оставляли на одну неделю. До лечения шерсть на спинках свинок каждые три дня сбривали (участок $5 \times 5\text{ см}$). Морских свинок случайным образом распределяли на две группы – исследуемую и контрольную, по 10 особей в каждой. Спинки каждой свинки в группах также разделяли на подгруппы: контрольная, контрольная + АОПТ-LTL, исследуемая «мелазма», исследуемая «мелазма + АОПТ-LTL» соответственно.

Морским свинкам из исследуемой группы с мелазмой и «Мелазма + АОПТ-LTL» каждое утро проводили инъекции прогестерона $7,5\text{ мг/кг}$ (Jilin Huamu Animal Health Products Co. Ltd) в заднюю лапку (лапы чередовали во избежание многократных инъекций).

Широкое изучение подтвердило, что только лишь воздействие ультрафиолета типа В (UVB) может успешно формировать мелазму у животных и что UVB напрямую активирует меланоциты, одновременно стимулируя кератиноциты к высвобождению промеланогенных факторов. Поэтому для моделирования мелазмы мы применяли UVB. Морских свинок подвергали воздействию дозой UVB, составлявшей 500 мДж/см^2 , на протяжении одного часа ежедневно в самодельном боксе для облучения, глаза животных были защищены, расстояние до ламп, излучающих ультрафиолет типа В (JCB35-24-01, Sigma, Shanghai, China), составляло 50 см . Интенсивность излучения UVB измеряли при помощи УФ-радиометра (Sigma, Shanghai, China), за изменениями на коже свинок наблюдали ежедневно на протяжении 30 дней.

После моделирования мелазмы начинали АОПТ-LTL-терапию, проводя по три сеанса с недельным интервалом. Перед процедурой на спинки морских свинок наносили прозрачный бесцветный гель, затем проводили воздействие с использованием платформы M22 (Lumenis Medical Company, USA) (фильтр 590 нм , плотность энергии 10 Дж/см^2 , три импульса, ширина импульса $8\text{-}6\text{-}6\text{ мс}$, интервал между импульсами 40 мс). Во избежание чрезмерной стимуляции кожи животных, обеспечения стабильности режима и использования стандартизированных параметров для валидации механизма действия, флюенс фиксировали на значении 10 Дж/см^2 . Изображения кожи спинок создавали с использованием цифровой камеры (EOS 90D, Canon, Japan). Образцы кожи брали через неделю после окончания эксперимента.

2.2. Пациенты с мелазмой и процедуры АОПТ-LTL

Два дерматолога независимо друг от друга вовлекли в исследование двадцать пациентов с клинически диагностированной мелазмой. Из исследования были исключены пациенты с воспалительными заболеваниями кожи лица (например, розацеа, поствоспалительная гиперпигментация), рубцами, иными расстройствами, связанными с гиперпигментацией, пациенты, прошедшие фотоэлектротерапию или медикаментозное лечение менее чем за 3 месяца до исследования, беременные и кормящие женщины.

Всем пациентам провели по три сеанса фототерапии с использованием платформы для лазерного ремоделирования кожи M22 (Lumenis, Israel), светофильтров $590/640\text{ нм}$ (плотность энергии $10\text{-}16\text{ Дж/см}^2$, тройной импульс, ширина импульса $8\text{-}6\text{-}6\text{ мс}$, интервал между импульсами $35\text{-}40\text{ мс}$). В отличие от эксперимента на животных процедуры в отношении людей должны учитывать индивидуальную переносимость пациента. Значение флюенса в диапазоне $10\text{-}16\text{ Дж/см}^2$ выбирали исходя из фототипа пациента по Фицпатрику, глубины залегания пигмента, реакции сосудов и с учетом нагрева кожи до температуры не выше $38,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (во избежание термическо-

го повреждения) при фотобиомодуляции. До и через 1 месяц после каждого сеанса создавали снимки кожи лица, которые анализировали при помощи мультиспектральной станции обработки изображений (Jiangsu Beining Intelligent Technology Development Co. Ltd., China). Выраженность мелазмы независимо друг от друга оценивали два дерматолога, используя системы оценки – модифицированный индекс площади и тяжести мелазмы (mMASI) и индекс эритемы (EI).

2.3. Окрашивание гистологических образцов

Образцы кожи морских свинок фиксировали в 4% параформальдегиде на протяжении не менее 24 часов, заливали в парафин, разрезали на секции толщиной 3–5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином (H&E), методами трихромного окрашивания Массона, метод Фонтана-Массона и толуидиновым синим. Затем проводили анализ шести образцов, отобранных случайным образом. В частности, распределение меланина в коже визуализировали посредством окрашивания гематоксилином и эозином, а также методом Фонтана-Массона, волокна коллагена, распределенные в дерме, оценивали методом трихромного окрашивания по Массону, а инфильтрацию тучных клеток анализировали за счет окрашивания толуидиновым синим. Для количественного анализа патологических изменений использовали Программу Image-Pro Plus (Media Cybernetics Inc).

2.4. Иммуногистохимическое и иммунофлуоресцентное окрашивание

Для депарафинизации, восстановления антигена срезы обрабатывали в натрий-цитратном буфере (pH 6,0) или буферном растворе на основе этилендиаминтетрауксусной кислоты EDTA (pH 9,0), для блокировки активности пероксидазных ферментов – в 3% перекиси водорода, и инкубировали с красящими реагентами (все от Servicebio, Wuhan, China) в 3% растворе бычьего сывороточного альбумина (BSA).

После иммуногистохимического окрашивания срезы инкубировали с антителами кролика CD31 (1 : 100, Venus Gene, China) при температуре 4 °C на протяжении ночи, трижды погружали в фосфатно-солевой буферный раствор PBST по 5 минут и инкубировали со вторичными антителами козы к иммуноглобулинам кролика (1 : 300, Servicebio, China) в течение одного часа при комнатной температуре. После повторной промывки срезы окрашивали 3,3'-диаминобензидином (DAB), подвергали контрастному окрашиванию гематоксилином, обезвоживали и запечатывали для наблюдения. Иммунофлуоресцентное окрашивание проводили путем инкубации срезов с использованием антител кроличьих (rabbit anti-c-KIT, 1 : 500, Abcam, ab283653, UK и rabbit anti-SCF, 1 : 500, Abcam, ab64677, UK), оставляя при температуре 4 °C на ночь и трижды погружая в раствор для промывки образцов на пять минут. После промывки срезы в течение 1 часа инкубировали со вторичными антителами козы к иммуноглобулинам кролика, конъюгированными с красителем Cy3, и антителами козы к иммуноглобулинам кролика с ФИТЦ (1 : 300, Servicebio, China) в течение 1 часа при комнатной температуре. После промывки срезы инкубировали с DAPI в темноте на протяжении 10 минут, запечатывали и наблюдали под флуоресцентным микроскопом. Статистический анализ интенсивности флуоресценции проводили при помощи программы Image-Pro Plus.

2.5. Количественный анализ методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (qRT-PCR, ОТ-ПЦР)

РНК из образцов кожи выделяли при помощи 1 мл реагента TRIzol (Takara, Shiga, Japan). Общее РНК экстрагировали с использованием устройства для высокоскоростного криогенного измельчения тканей Servicebio, China) и проводили обратную транскрипцию в кДНК с концентрацией 2000 нг РНК при помощи набора PrimeScript RT (Takara, Shiga, Japan). Анализ qRT-PCR проводили с использованием реагента TB Green Premix Ex Taq II (Takara, Shiga, Japan) и системы BIO-RAD CFX (BioRad, Munich, Germany). Для каждого образца исследование проводили по пять раз. Относительную экспрессию подсчитывали с использованием алгоритма 2- $\Delta\Delta C_t$, с геном АСТВ в качестве контрольного. Праймеры были разработаны компанией Shanghai Sangon Bioengineering Co. LTD, а их последовательности приведены в дополнительных материалах.

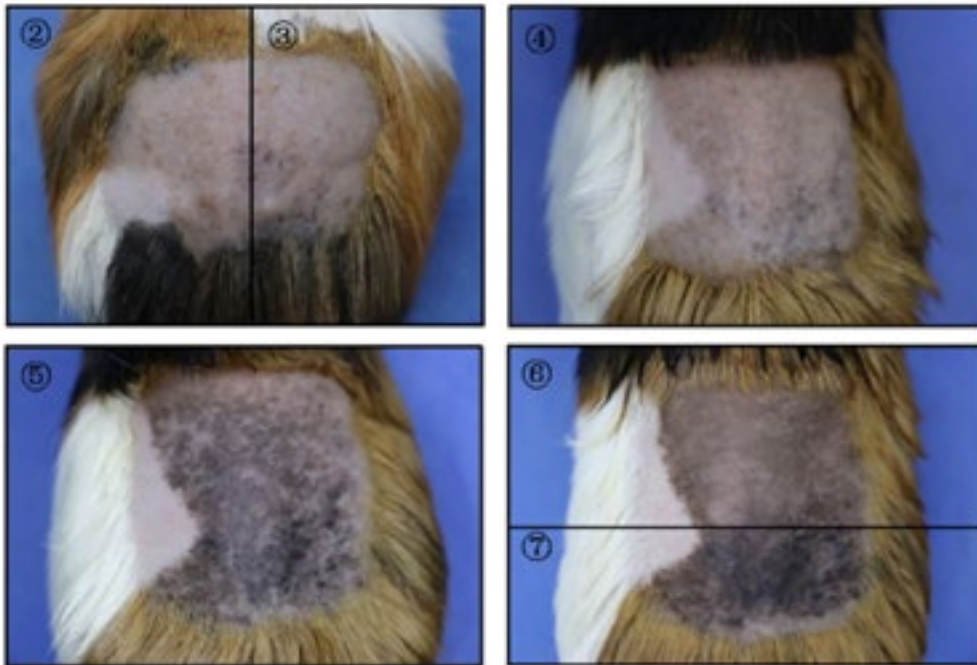
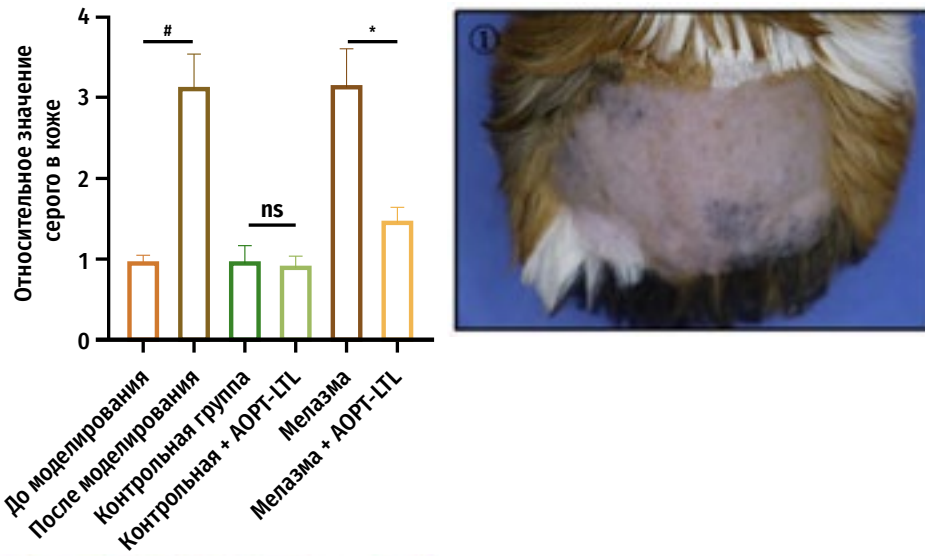
2.6. Вестерн-блоттинг

Лизис образцов кожи проводили в смеси буфера RIPA и ингибитора PMSF (Beyotime Biotechnology, China) в соотношении 100 : 1. Для количественного определения общего белка использовали набор BCA Protein Assay Kit (Beyotime Biotechnology, China). Белки разделяли методом электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE), а затем переносили на мембрану из поливинилиденфторида PVDF и погружали в буферный раствор TBST, содержащий 0,05% Tween 20 и 5% бычьего сывороточного альбумина (БСА). Первичные антитела к c-KIT (1:5000, Abcam, ab283653, UK), к фактору стволовых клеток (SCF) (1 : 1000, Abcam, ab64677, UK) и к бета-актину (1 : 1000, Abcam, UK) инкубировали в течение ночи при температуре 4 °C, затем трижды промывали в буферном растворе TBST по 10 минут. После этого мембраны инкубировали со вторичными антителами козы к иммуноглобулинам кролика, с пероксидазой хрена (HRP) (1 : 1000, Beyotime Biotechnology, China) или с антителами козы к иммуноглобулинам мыши HRP (1 : 1000, Beyotime Biotechnology, China) в течение часа при комнатной температуре. Затем при помощи системы Tanon 5200 Multi (Shanghai, China) анализировали полосы белков, а при помощи программы Image-Pro Plus проводили количественный анализ с нормализацией бета-актина.

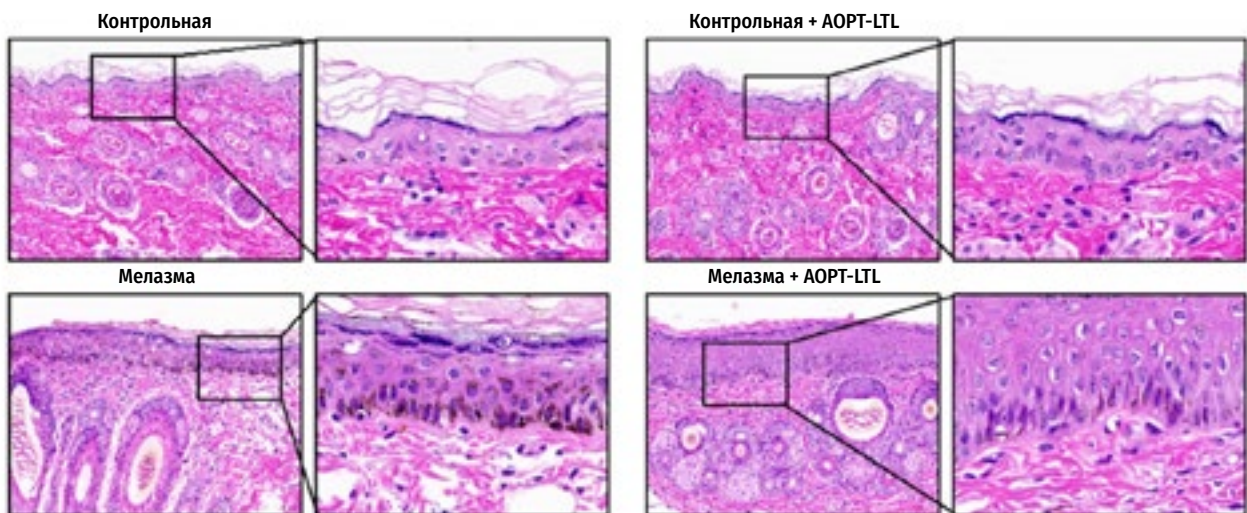
2.7. Статистический анализ

Для статистического анализа использовали программу GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Различия значений сравнивали с применением t-критерия или одностороннего анализа переменных (ANOVA). Все нормально распределенные данные были представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение (SD). Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

(A)



(B)



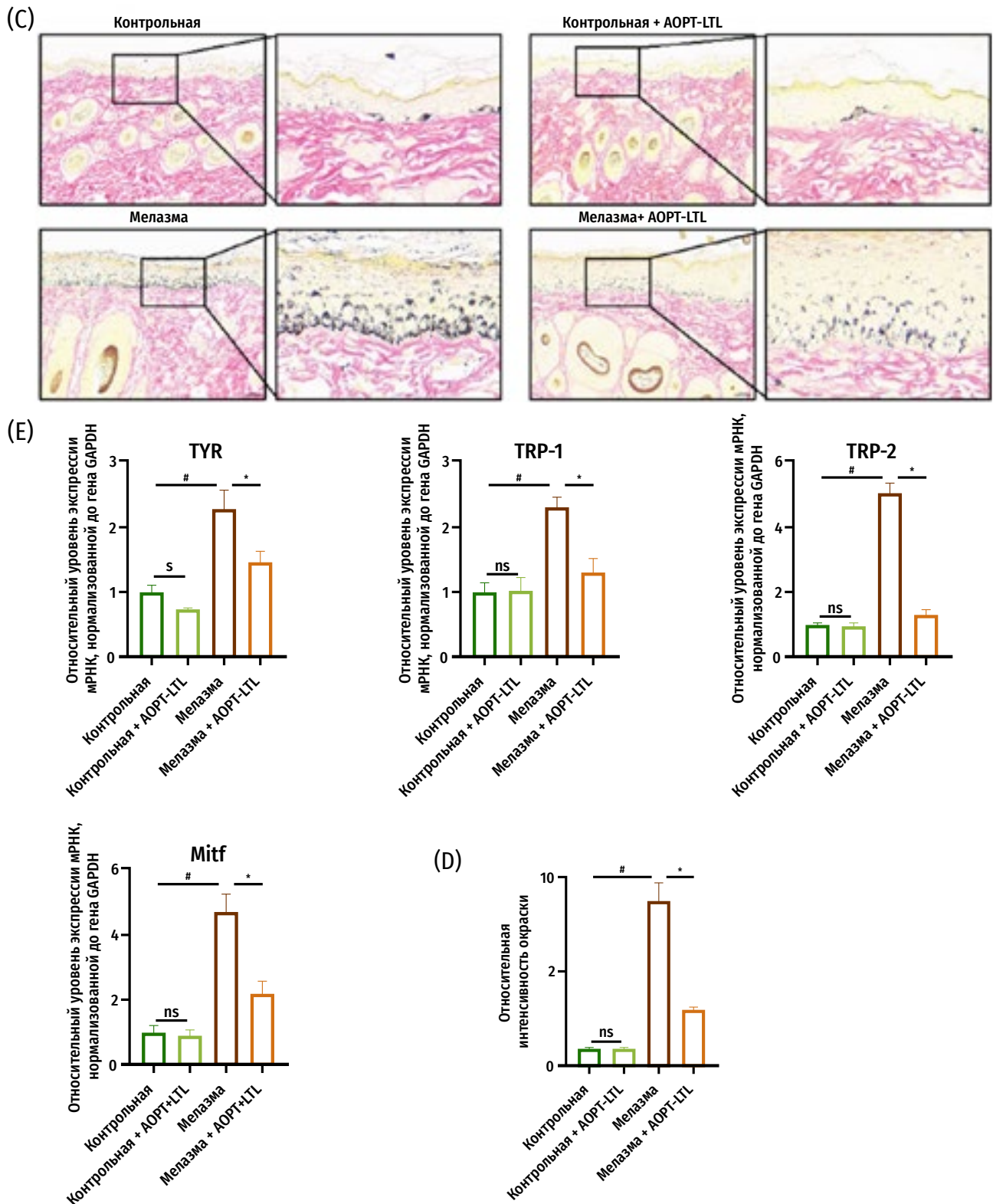


Рисунок 1. Процедуры АОРТ-LTL уменьшают пигментацию у морских свинок с мелазмой. (А) Изображение пигментации кожи морских свинок крупным планом и количественное выражение значений серого (1. Контрольная группа до моделирования; 2. Контрольная группа; 3. Контрольная + АОРТ-LTL группа; 4. Исследуемая группа с мелазмой до моделирования; 5. Исследуемая группа с мелазмой в конце моделирования; 6. Исследуемая группа с мелазмой; 7. Исследуемая группа «Мелазма + АОРТ-LTL»). (В-Д) Окрашивание кожи Н&Е (В) и окрашивание методом Фонтана-Массона (С, Д) (увеличение = 20х, масштабная шкала = 200 мкм). (Е) Уровни мРНК TYR, TRP-1, TRP-2 и MITF в коже. n = 5, #p < 0,05 vs. Контрольная группа, *p < 0,05 vs. Контрольная + АОРТ-LTL группа

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Процедуры АОРТ-LTL уменьшали пигментацию на коже морских свинок с мелазмой

Кожа морских свинок на участках, которые подвергали воздействию ультрафиолета типа В (UVB), имела более темный цвет, более сильную концентрацию меланина, а значения серого не уменьшались после одного месяца моделирования мелазмы, что подтверждало ее стабильность на моделях морских свинок. После трех сеансов АОРТ-LTL наблюдалось существенное уменьшение пигментации кожи и значений серого ($p < 0,05$) (Рисунок 1А). По сравнению с контрольной группой, у исследуемой группы «Мелазма» наблюдалась очевидная эпидермальная гиперплазия и массивное отложение частиц меланина в базальном слое кожи (Рисунок 1В–Д).

Примечательно, что отложение частиц меланина было существенно меньше в исследуемой группе «Мелазма + АОРТ-LTL» ($p < 0,05$). Кроме того, анализ qRT-PCR показывал существенно более высокие уровни мРНК тирозина (TYR), тирозиназа-зависимого белка 1 (TRP-1), тирозиназа-зависимого белка 2 (TRP-2) и фактора транскрипции, ассоциированного с микрофтальмией (MITF) в исследуемой группе «Мелазма», чем в контрольной группе ($p < 0,05$) (Рисунок 1Е), которые далее значительно снижались вследствие процедур АОРТ-LTL.

3.2. Процедуры АОРТ-LTL уменьшали пигментацию на коже морских свинок с мелазмой

Инфильтрацию тучных клеток иногда наблюдали в контрольной группе, но существенно более заметной она была в исследуемой группе с мелазмой. И наоборот, количество тучных клеток в исследуемой группе «Мелазма + АОРТ-LTL» было существенно ниже, чем в группе «Мелазма» ($p < 0,05$) (Рисунок 2А,В). Кроме того, уровни мРНК таких воспалительных цитокинов, как фактор некроза опухоли α (TNF- α), интерлейкин- 1β (IL- 1β) и интерлейкин-6 (IL-6), а также ключевые ферменты, регулирующие медиаторы воспаления, такие как индуцируемая синтаза оксида азота (iNOS) и циклооксигеназа-2 (COX-2), были значительно ниже в исследуемой группе «Мелазма» + АОРТ-LTL, чем в исследуемой группе «Мелазма» ($p < 0,05$) (Рисунок 2С). Кроме COX-2, уровни мРНК оставшихся воспалительных цитокинов были сравнимыми в контрольной группе и контрольной группе + АОРТ-LTL ($p > 0,05$).

3.3 Процедуры АОРТ-LTL уменьшали ангиогенез в коже морских свинок с мелазмой

CD31 – это известный маркер ангиогенеза. Иммуногистохимическое окрашивание показывало заметную вазолидацию кожи и значительно более высокий уровень CD31 в группе «Мелазма», чем в контрольной группе (Рисунок 3А, В). Процедуры АОРТ-LTL существенно уменьшали количество кровеносных сосудов. Гистамин является вазолидирующим веществом и активным медиатором, высвобождаемым тучными клетками. VEGF, TGF- β и FGF-2 – это цитокины, ответственные за обеспечение пролиферации сосудистых эндотелиальных клеток. Их уровни мРНК были значительно выше в исследуемой группе «Мелазма», чем в контрольной группе, но уменьшались под воздействием АОРТ-LTL ($p < 0,05$) (Рисунок 3С).

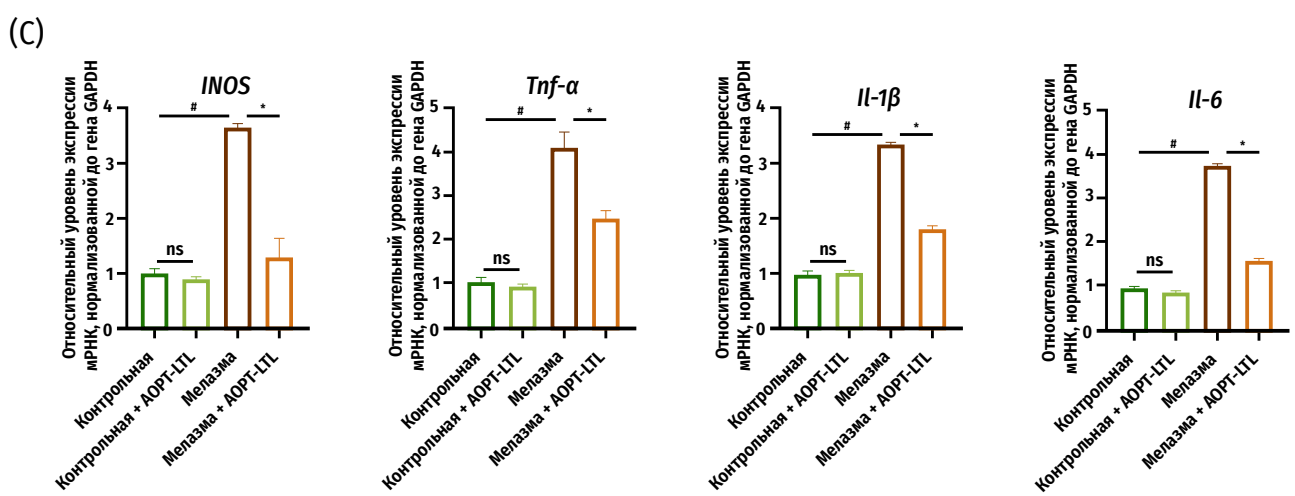
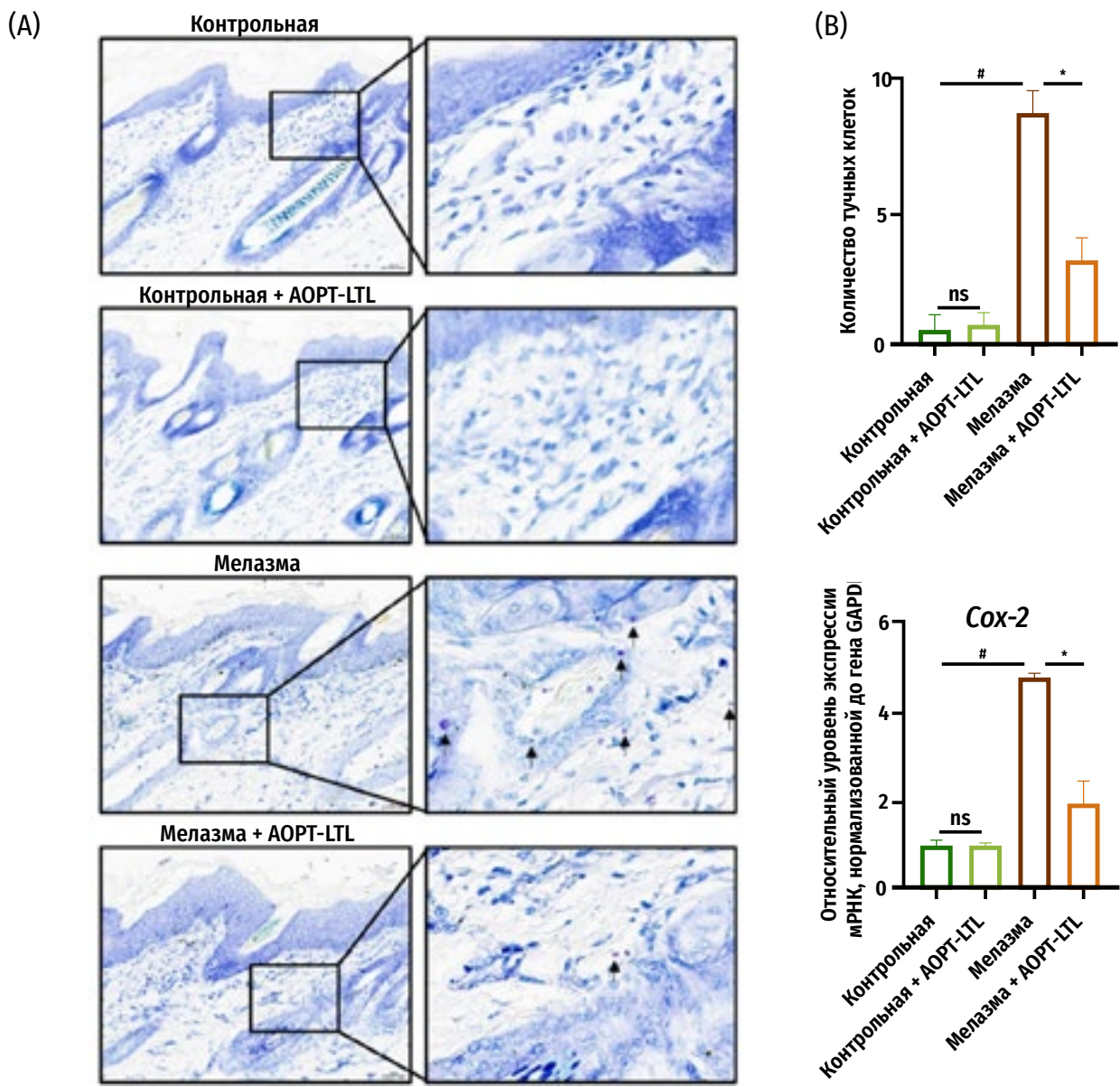


Рисунок 2. Процедуры АОРТ-LTL уменьшают инфильтрацию тучных клеток у морских свинок с мелазмой. (А, В) Окрашивание толуидиновым синим инфильтрации тучных клеток в кожу (А) и количественное выражение (В) (увеличение = 20х, масштабная шкала = 200 мкм). (С) Уровни мРНК COX-2, INOS, TNF-α, IL-1β, и IL-6 в коже. n = 5, #p < 0,05 vs. Контрольная группа, *p < 0,05 vs. Контрольная + АОРТ-LTL группа

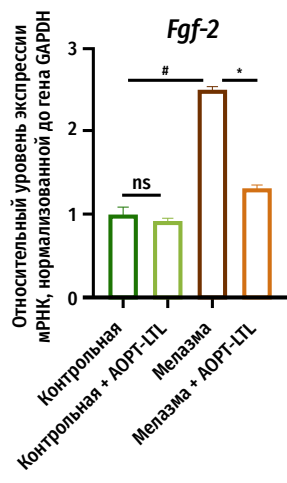
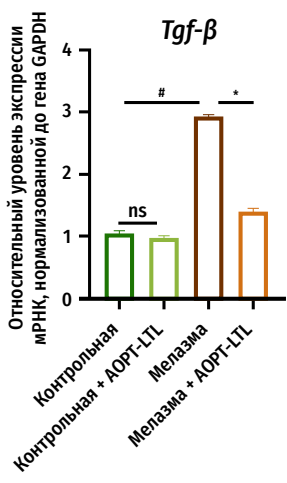
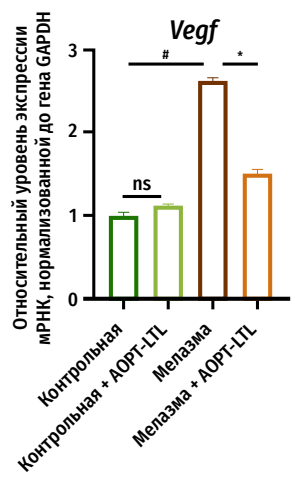
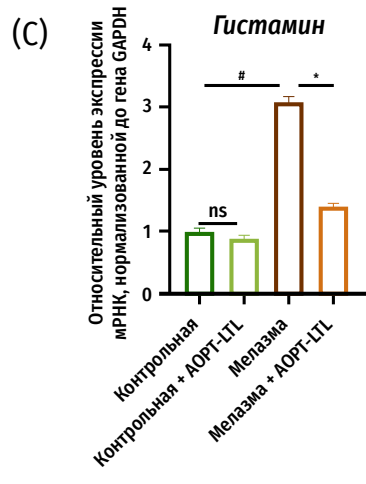
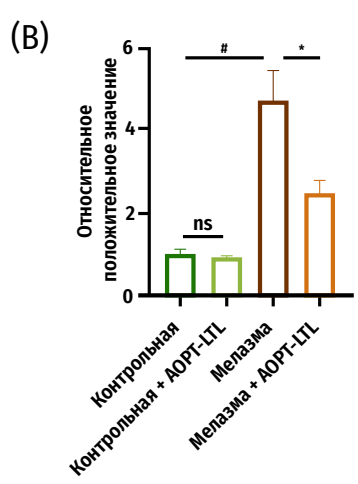
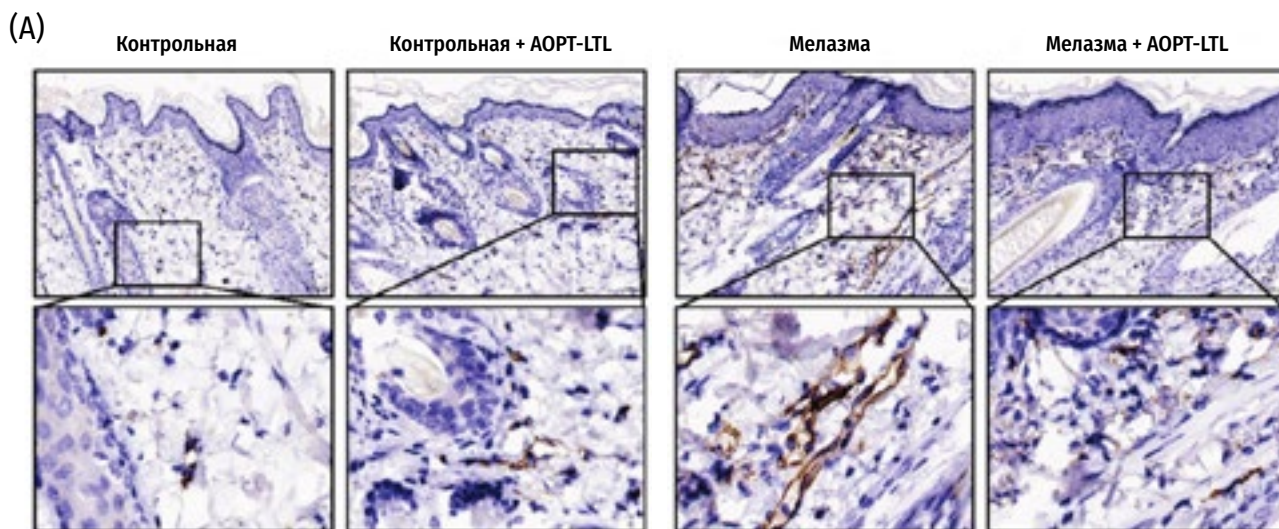


Рисунок 3. Процедуры АОРТ-LTL уменьшают ангиогенез у морских свинок с мелазмой. (А, В) Иммуногистохимическое окрашивание CD31 в коже (А) и количественное выражение (В) (увеличение = 20х, масштабная шкала = 200 мкм). (С) Уровни мРНК VEGF, TGF-β и FGF-2 в коже. n = 5, #p < 0,05 vs. Контрольная группа, *p < 0,05 vs. Контрольная + АОРТ-LTL группа

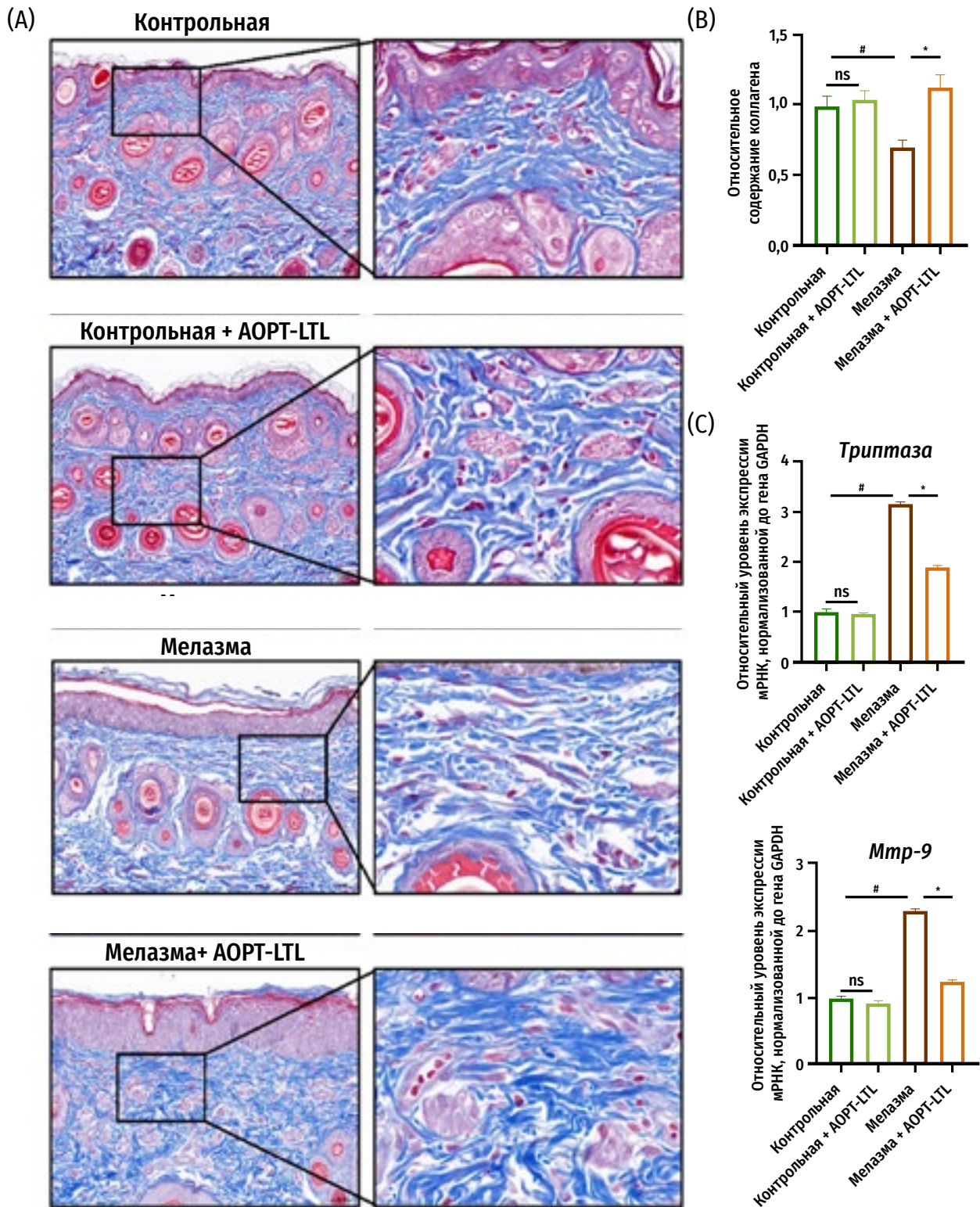


Рисунок 4. Процедуры АОПТ-LTL уменьшали признаки фотостарения и морских свинок с мелазмой. (А, В) Трихромное окрашивание коллагеновых волокон в коже по Массону и количественное выражение (увеличение = 20х, масштабная шкала = 200 мкм). (С) Уровни мРНК триптазы и MMP-9 в коже. $n = 5$, # $p < 0,05$ vs. Контрольная группа, * $p < 0,05$ vs. Контрольная + АОПТ-LTL группа

3.4 Процедуры АОРТ-LTL уменьшали признаки фотостарения кожи у морских свинок с мелазмой

По сравнению с контрольной группой содержание коллагеновых волокон в исследуемых группах с мелазмой сокращалось, это сопровождалось их очевидным беспорядочным расположением ($p < 0,05$) (Рисунок 4А, В). После процедур АОРТ-LTL количество волокон коллагена в дерме росло, расположение их становилось более упорядоченным и более компактным ($p < 0,05$). Повышенные уровни мРНК двух ферментов, ответственных за деградацию коллагена, – триптазы и матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) – в группе с мелазмой равномерно уменьшались на фоне воздействия АОРТ-LTL (Рисунок 4С).

3.5 Процедуры АОРТ-LTL предположительно могли снижать инфильтрацию тучных клеток у морских свинок с мелазмой за счет подавления экспрессии сигнального пути SCF/c-KIT лиганд/рецептор

По сравнению с контрольной группой, в группе «Мелазма» в дерме наблюдалось обширное распространение меченых зеленым флуоресцентным красителем c-KIT и красным флуоресцентным красителем SFC. Кроме того, c-KIT и SCF были локализованы в цитоплазме. После процедур АОРТ-LTL положительная экспрессия c-KIT и SCF значительно снижалась ($p < 0,05$) (Рисунок 5А, D). Анализ методом «Вестерн-блоттинг» уверенно показывал усиление экспрессии c-KIT и SCF в клетках дермы в группе «Мелазма» по сравнению с контрольной группой. Уровни белка были существенно ниже после процедур АОРТ-LTL ($p < 0,05$) (Рисунок 5В, С).

3.6 Процедуры АОРТ-LTL облегчали клинические проявления мелазмы

Изображения кожи пациентов, страдающих мелазмой, создавали до (исходные) и через 1 месяц после каждого сеанса (Рисунок 6А). Процедуры АОРТ-LTL существенно уменьшали содержание меланина и выраженность эритемы. По сравнению с исходным показателем 3,20, среднее значение индекса по шкале mMASI существенно уменьшалось до 1,13 через месяц после трех процедур IPL-терапии (Рисунок 6В), индекс эритемы существенно уменьшался с 510 до 358 пунктов (Рисунок 6С) (для обоих $p < 0,05$). Никто из пациентов, страдающих мелазмой, не испытывал серьезных побочных эффектов, что подтверждает высокую безопасность процедур АОРТ-LTL.

4. ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования показали, что процедуры АОРТ-LTL значительно уменьшали пигментацию кожи и выраженность эритемы и у морских свинок, и у когорты пациентов, страдающих мелазмой.

Инновационный режим АОРТ-LTL позволял эффективно добиваться цели, заключавшейся в уменьшения инфильтрации тучных клеток, ангиогенеза и воспаления в тканях кожи мор-

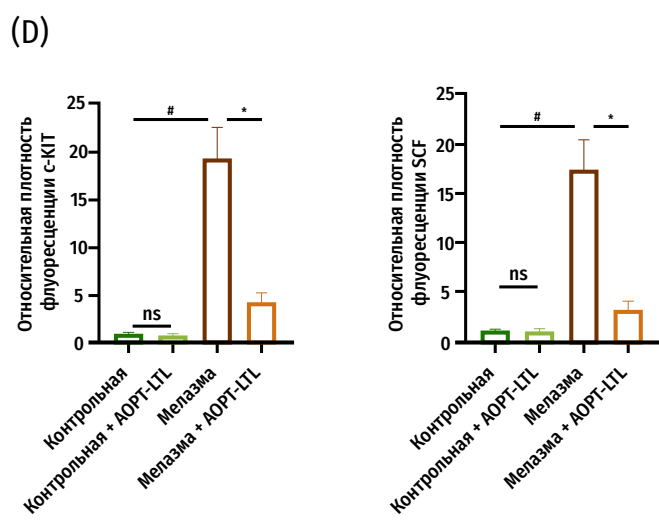
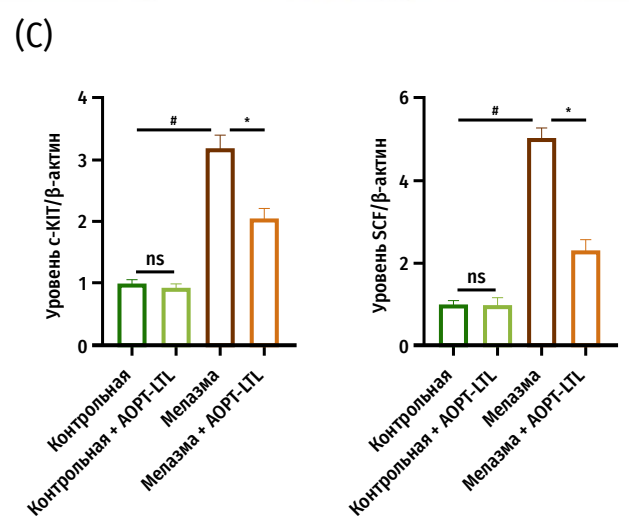
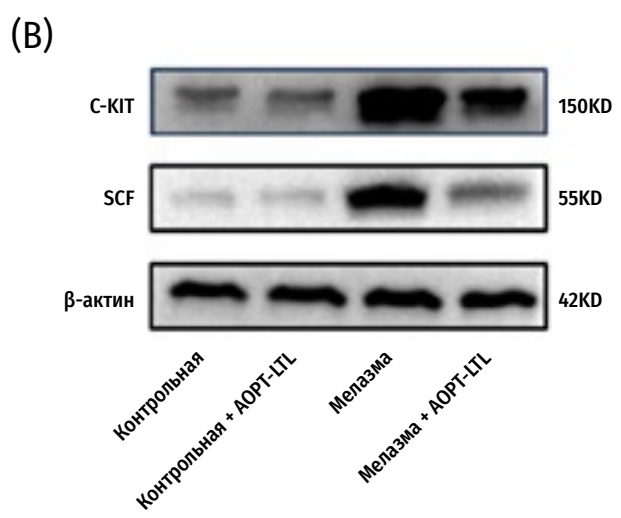
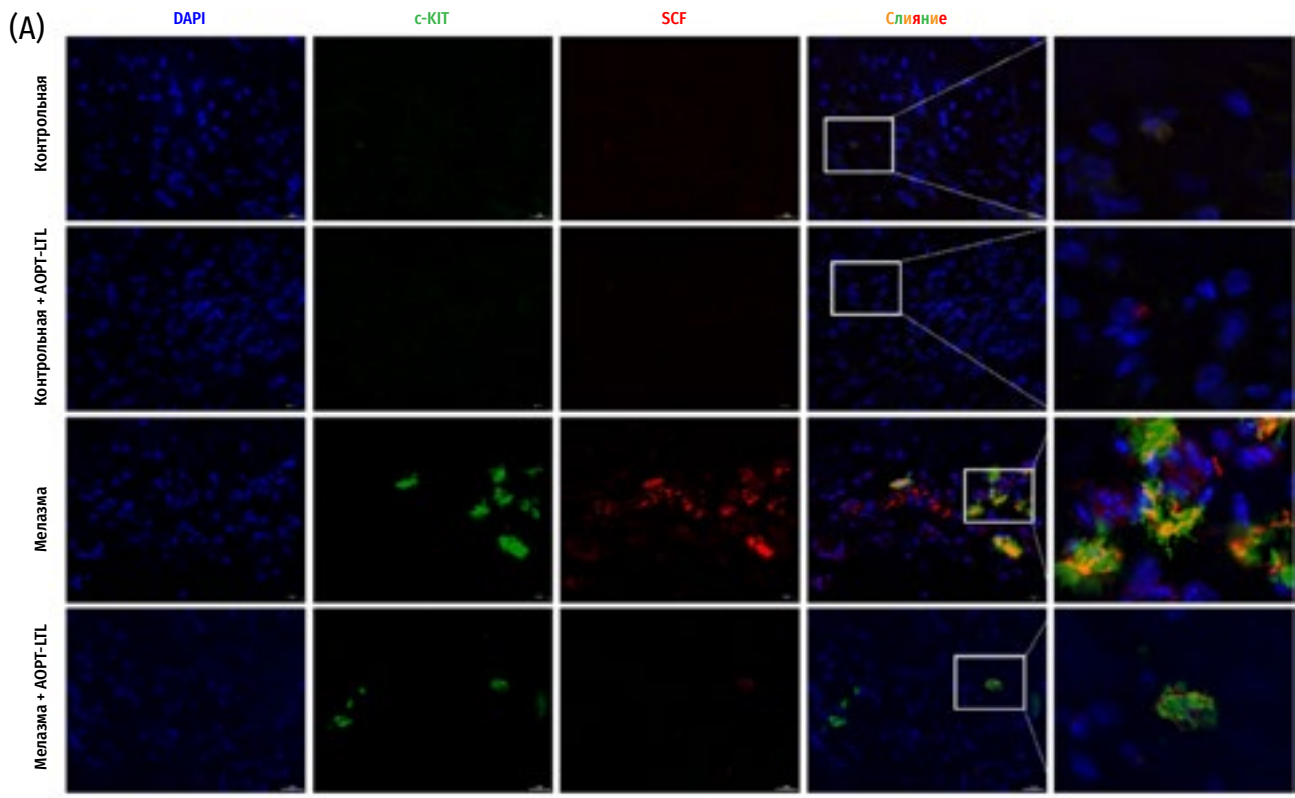


Рисунок 5. Процедуры AOPT-LTL уменьшают инфильтрацию тучных клеток у морских свинок с мелазмой за счет подавления сигнального пути SCF/c-KIT лиганд/рецептор. (A) Иммунофлуоресцентное окрашивание c-KIT и SCF в коже (увеличение = 20х, масштабная шкала = 200 μ m). (B) Уровни белка c-KIT и SCF в коже. (C, D) Уровни мРНК c-KIT (C) SCF (D) в коже. $n = 5$, # $p < 0,05$ vs. контрольная группа, * $p < 0,05$ vs. Контрольная + AOPT-LTL группа

ских свинок с мелазмой, что может быть связано с подавлением сигнального пути SCF/c-KIT лиганд/рецептор (Рисунок 7).

После трех сеансов АОРТ-LTL проявления мелазмы значительно уменьшались без значительных побочных эффектов. Низкоэнергетический с большим размером пятна Q-switched Nd:YAG-лазер широко применяется для лечения мелазмы в Азии. Он эффективно уменьшает пигментацию за счет воздействия на меланосомы через субклеточный селективный фототермический эффект [20]. Тем не менее для мелазмы характерен рецидив, составляющий 58,8 %

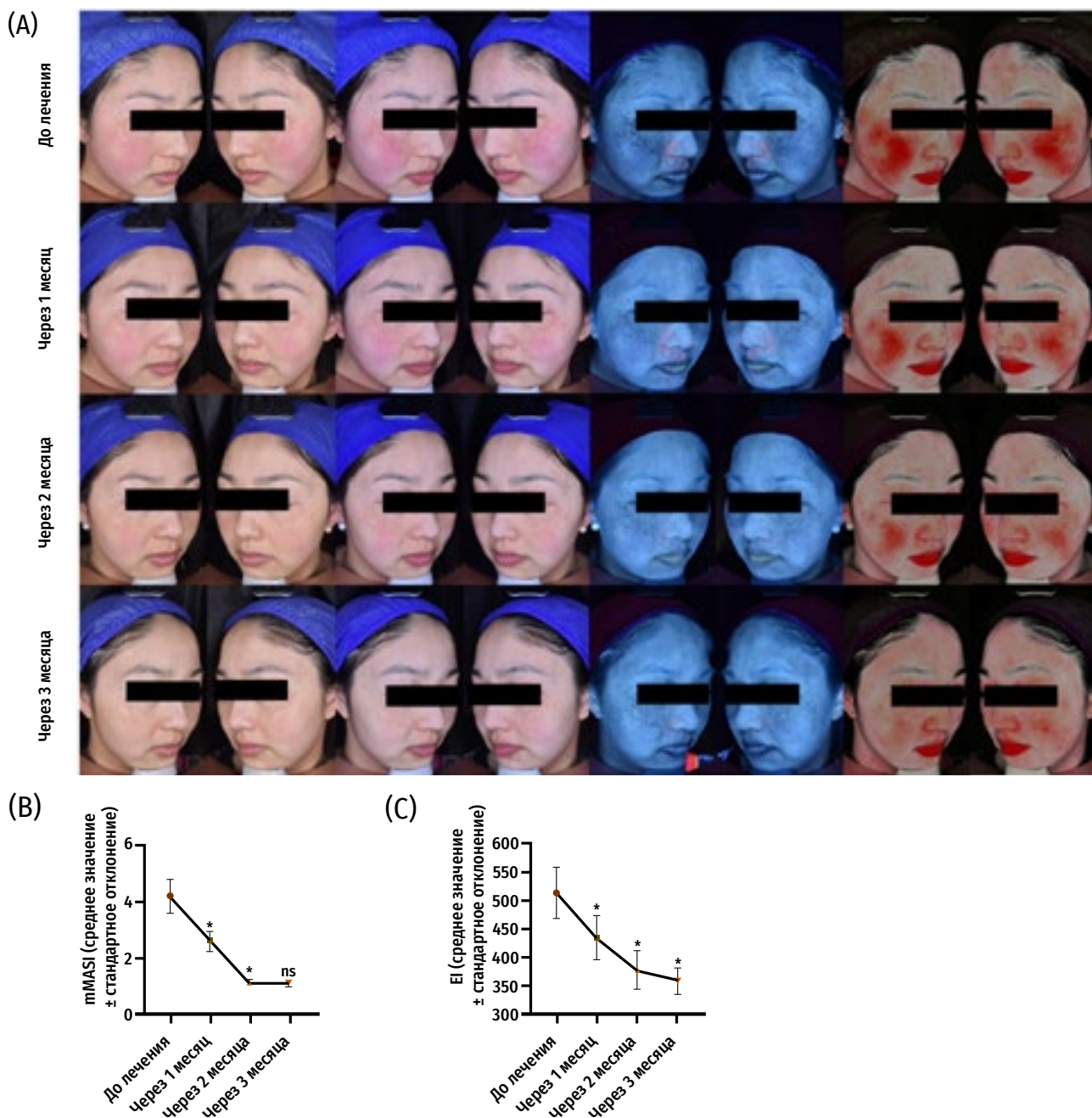


Рисунок 6. Процедуры АОРТ-LTL уменьшают клинические проявления мелазмы у пациентов (A) Показательные изображения в поляризованном свете (слева), ультрафиолетовом (посередине), многозональные изображения (справа) мелазмы у пациентов до (исходные) и через 1 месяц после каждого сеанса IPL-терапии. (B, C) Значения индексов mMASI (B) и CEI (C) у пациентов с мелазмой до и через 1 месяц после каждого сеанса IPL-терапии. n = 20. *p < 0,05 vs. Исходные; ns, незначительное различие

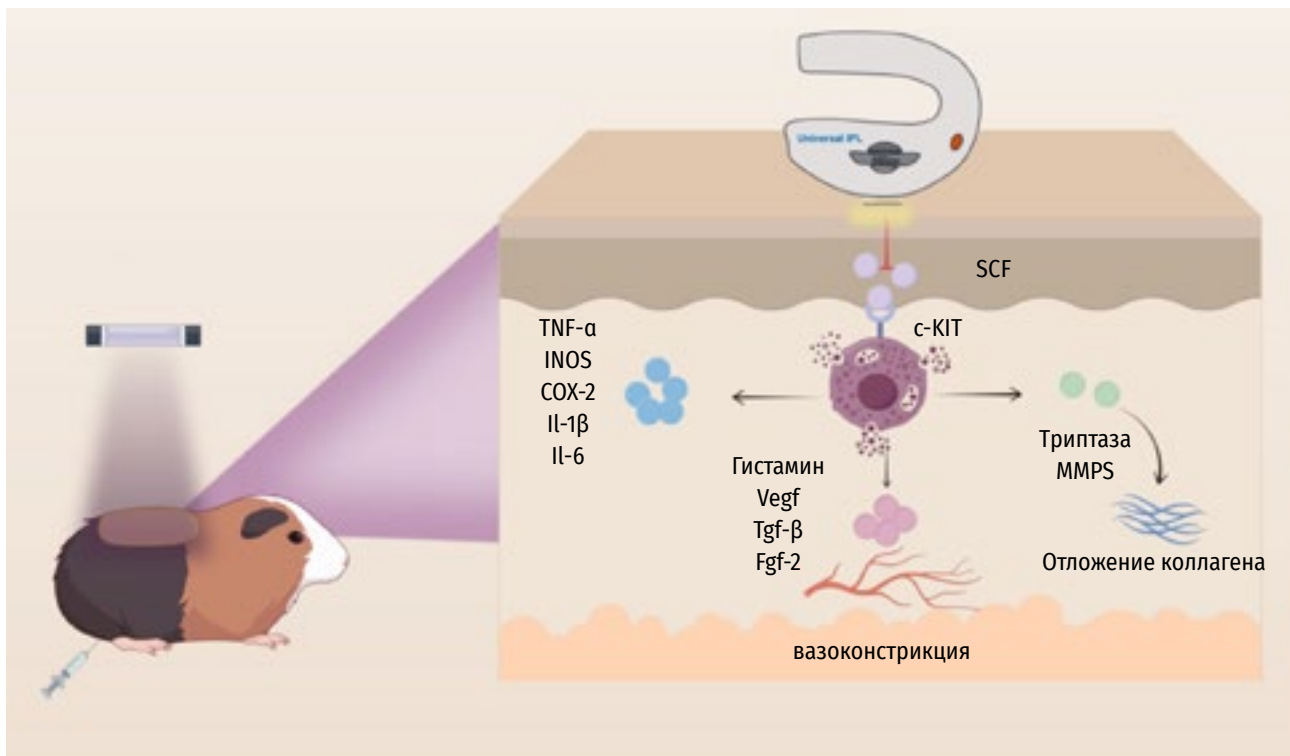


Рисунок 7. Графическое резюме. Процедуры АОПТ-LTL действуют на мелазму за счет уменьшения меланогенеза, воспаления, ангиогенеза, инфильтрации тучных клеток и дегенерации коллагена через подавление сигнального пути SCF/c-KIT лиганд/рецептор у морских свинок

через год после лечения [21]. Частые процедуры при помощи Q-switched Nd:YAG также провоцируют такие побочные эффекты, как мозаичная гипопигментация из-за короткой длительности импульса и пиковой энергии [22, 23]. Превосходящий традиционные лазерные процедуры IPL дает больший контроль за параметрами, такими как количество импульсов, ширина импульса, интервал между импульсами, и позволяет подавать более умеренную энергию и оказывать меньшее раздражающее действие на меланциты [19]. Li и соавт. [24] сообщали, что IPL (светофильтр 560/590 нм, флюенс 13–17 Дж/см², двойной импульс) существенно уменьшал индекс mMASI у пациентов, страдающих мелазмой. Ретроспективный анализ показал, что IPL с использованием традиционных параметров, рекомендуемых производителем, приводит к образованию мелазмоподобной гиперпигментации при лечении пигментных расстройств кожи [17].

Хотя традиционный режим с применением высоких параметров энергии и короткого импульса позволяет добиваться избирательного термического разрушения меланосом, высокоинтенсивный нагрев часто вызывает неспецифическое термическое повреждение [14]. Воспаление, сопровождающееся раздражением тканей от воздействия высокой энергии, усугубляет пигментацию у пациентов с мелазмой [25]. Вае и соавт. [15] обнаружили, что низкая энергия IPL (10 или 13 Дж/см², двойной импульс) имеет больше преимуществ и меньше побочных эффектов в отношении пораженной мелазмой кожи у азиатской популяции пациентов. Режим АОПТ-LTL характеризуется низкими параметрами энергии, тройным импульсом большой длительности.

Хотя эксперименты, которые сравнивали бы напрямую АОПТ-LTL и традиционную IPL-терапию, отсутствуют, наши предварительные исследования показали, что три сеанса АОПТ-LTL эффективно предотвращали термическое повреждение окружающих тканей и уменьшали содержание меланина и выраженность эритемы.

Инфильтрация тучных клеток – это патологический признак мелазмы [8].

Воздействие ультрафиолета и психологический стресс являются доминирующими факторами, стимулирующими рекрутирование и дегрануляцию тучных клеток [26]. Активированные тучные клетки далее стимулируют синтез меланина за счет выпуска протеаз, эйкозаноидных кислот и цитокинов. Кроме того, тучные клетки способствуют синтезу меланина, ускоряя созревание и доставку меланосом [27–29]. За счет сокращения количества тучных клеток транексамовая кислота эффективно уменьшает мелазму [30]. Недавнее исследование показало, что IPL-процедуры уменьшают воспалительную реакцию за счет подавления дегрануляции тучных клеток [31]. Мы наблюдали, что АОРТ-LTL-терапия значительно уменьшала инфильтрацию тучных клеток, высвобождение провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6) и экспрессию ключевых ферментов, влияющих на синтез медиаторов воспаления (iNOS, COX-2) у морских свинок с воспроизведенной моделью мелазмы.

Избыточная экспрессия SCF и его рецептора c-KIT играет критическую роль в формировании пигментации мелазмы [32]. Связанная с рецептором c-KIT на поверхности, SCF вызывает дегрануляцию тучных клеток и высвобождение активных медиаторов и цитокинов, ассоциированных с мелазмой [33]. Dai и соавт. [18] обнаружили, что LED-воздействие с длиной волны 590 нм существенно снижало выработку меланина за счет уменьшения экспрессии SCF. В данном исследовании процедуры АОРТ-LTL значительно ингибировали сигнальный путь SCF/c-KIT лиганд/рецептор в коже морских свинок с мелазмой.

И количество, и объем кровеносных сосудов в очаге мелазмы увеличиваются. Имеется положительная корреляция между пигментацией и количеством кровеносных сосудов [7, 34]. Пролиферация кровеносных сосудов приводит к притоку воспалительных клеток и цитокинов (в частности, VEGF, TGF- β и FGF-2) в новообразования кожи, далее формируя положительный цикл обратной связи для обеспечения пролиферации сосудов в мелазме [35].

Клинический случай, описанный в контролируемом исследовании «split-face», показал, что васкуляризация при мелазме заметно уменьшилась после воздействия импульсным лазером pulsed fuel laser в сочетании с наружной терапией по сравнению с участком лечения только топическими препаратами, и не приводила к рецидивам в течение трех лет. Это позволяет предположить, что воздействие на кровеносные сосуды может играть роль в предупреждении рецидива [36]. LED-терапия ингибирует миграцию и формирование тубулярных структур в человеческих микрососудистых эндотелиальных клетках, таким образом подавляя эритему, ассоциированную с мелазмой [18]. Важно отметить, что для прецельной коагуляции кровеносных сосудов требуются высокие параметры энергии IPL. Исследования продемонстрировали, что коагуляция крови может происходить только когда температура превышает 70° и стенки кровеносного сосуда достаточно повреждены [37]. Очевидно, что использованные нами параметры лечения не могут достигать температуры, необходимой для коагуляции кровеносных сосудов.

Jiang и соавт. [31] обнаружили, что у пациентов, страдающих розацеа, эффект фотобиомодуляции при воздействии IPL выражается в существенном уменьшении степени эритемы по клинической шкале оценки эритемы (CEA). В нашем исследовании мы наблюдали, что процедуры АОРТ-LTL также эффективно подавляли экспрессию генов, отвечающих за сосуды, в модели мелазмы у морских свинок и приводили к существенному снижению индекса эритемы (EI) у клинических пациентов. Это может быть связано со способностью процедур АОРТ-LTL эффективно подавлять пролиферацию эндотелиальных клеток в сосудах и экспрессию проангиогенных цитокинов (VEGF, TGF- β , FGF-2).

Кроме того, процедуры уменьшали количество тучных клеток и их дегрануляцию одновременно с уменьшением высвобождения гистамина, за счет чего опосредованно обеспечивали сужение кровеносных сосудов.

Мелазму можно считать расстройством, связанным с фотостарением кожи, при котором наблюдается очевидная деградация и утрата коллагена в поверхностной дерме [38]. Генетическое профилирование выявляет усиление экспрессии генов, ассоциированных с деградацией коллагена, и снижение экспрессии генов, ассоциированных с синтезом коллагена [39]. Xiao и соавт. [40] доказали эффективность геля PF-GL-TE в замедлении процесса старения кожи за счет минимизации утраты коллагена у крыс с мелазмой. Результаты нашего исследования показывают, что процедуры АОПТ-LTL значительно увеличивали количество коллагеновых волокон в дерме и восстанавливали их расположение за счет уменьшения экспрессии триптазы и MMP-9, тем самым контролируя процесс фотостарения у морских свинок с мелазмой.

Утолщение эпидермиса, которое мы наблюдали у животных на участках кожи, пораженной мелазмой, противоположно истончению эпидермиса, которое обнаруживали в предыдущих клинических исследованиях мелазмы у людей [41]. Это противоречие требует глубокого изучения и выяснения причин. Модель мелазмы у животных в нашем исследовании создавали за счет инъекций прогестерона в сочетании с облучением ультрафиолетом типа В [42, 43]. Известно, что хроническое воздействие UVB провоцирует эпидермальную гиперплазию, которая является защитной реакцией, усиливающей физический барьер кожи против дальнейшего повреждения ультрафиолетом за счет стимулирования пролиферации кератиноцитов [44]. В нашей модели у животных острый пролиферативный эффект, вызванный УФ-облучением, может быть доминирующим и приводить к утолщению эпидермиса. И наоборот, мелазма у людей – это стойкое патологическое состояние, вызванное длительным накопительным воздействием множества факторов (таких как хроническое воздействие ультрафиолета, гормональный дисбаланс, генетическая предрасположенность и нарушенная барьерная функция), постепенно приводящее к атрофии эпидермиса [45]. Это различие показывает, что, создавая модель мелазмы у животных, можно эффективно стимулировать появление пигментации и воспалительный ответ, но нельзя в полной мере воспроизвести долгосрочную деградацию структуры в очагах мелазмы человека.

Необходимы дальнейшие исследования, чтобы проверить, покажет ли долгосрочное наблюдение за мелазмой у животных переход к истончению эпидермиса, тем самым позволив приблизиться к патологическому состоянию человека.

Данное исследование имеет некоторые ограничения. Во-первых, оно показало, что, возможно, процедуры АОПТ-LTL улучшали уровни меланина и эритемы за счет уменьшения инфильтрации тучных клеток *in vivo*. Чтобы проверить специфический механизм подавления тучных клеток и причинно-следственные связи необходимы дальнейшие эксперименты *in vitro*.

Вместе с тем, в отсутствие прямого сравнения результатов АОПТ-LTL и традиционной IPL-терапии, необходимы специальные сравнительные исследования. Кроме того, для изучения клинической эффективности АОПТ-LTL и частоты рецидива мелазмы крайне важны больший объем выборки пациентов с мелазмой и более длительный период наблюдения.

5. ВЫВОД

Таким образом, три процедуры АОПТ-LTL эффективны для лечения мелазмы за счет уменьшения меланогенеза, инфильтрации тучных клеток, уменьшения воспаления, ангиогенеза и дегенерации коллагена.

Кроме того, они способствуют подавлению пролиферации тучных клеток и их миграции, потенциально, за счет модулирования сигнального пути SCF/c-KIT лиганд/рецептор.

Вклады авторов

Идея и дизайн экспериментов: Jing Wang, Xinlan Wang, Li Gu, Bingrong Zhou, Hui Hua. Проведение экспериментов и анализ данных: Jing Wang, Xinlan Wang, Li Gu. Предоставление реагентов/материалов/инструментов анализа: Zhinan Shi, Zhiyi Xu, Siqi Shen. Исследования: Liqun Gu, Chenglong Jin. Methodology: Lin Chen, Linling Ju. Проверка и редактирование: Bingrong Zhou, Hui Hua. Написание: Jing Wang, Xinlan Wang, Li Gu.

Все авторы одобрили отправку этой версии манускрипта.

Заявления о соблюдении этических норм

Исследование было проведено в соответствии с принципами, утвержденными Хельсинкской декларацией, и одобрено Комитетом по этике больницы г. Нантунь Nantong Third People's Hospital (номер одобрения: EL2024024).

Информированное согласие

Информированное согласие было получено от всех пациентов, участвовавших в исследовании. В исследование были вовлечены пациенты больницы г. Нантунь (Nantong Third People's Hospital) с диагностированной мелазмой. Исследования на животных были одобрены Комитетом Нантуньского университета по этике при проведении исследований на животных (Animal Ethics Committee of Nantong University (номер одобрения: S20240215-031) и проводились в соответствии с этическими принципами. Морские свинки были предоставлены Центром лабораторных животных Нантуньского университета (Laboratory Animal Center of Nantong University).

Конфликт интересов

Согласно заявлению авторов, конфликт интересов отсутствует.

Заявление о доступности данных

Данные, подтверждающие результаты данного исследования, доступны в разделе «Дополнительная информация» к данной статье.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. N. Neagu, C. Conforti, M. Agozzino, et al., "Melasma Treatment: A Systematic Review," *Journal of Dermatological Treatment* 33, no. 4 (2022): 1816–1837.
2. D. Hessel, D. A. Lacerda, A. S. Cavalcante, et al., "Epidemiology of Melasma in Brazilian Patients: A Multicenter Study," *International Journal of Dermatology* 53, no. 4 (2014): 440–444.
3. R. Yalamanchili, V. Shastry, and J. Betkerur, "Clinico-Epidemiological Study and Quality of Life Assessment in Melasma," *Indian Journal of Dermatology* 60, no. 5 (2015): 519.
4. O. A. Ogbechie-Godec and N. Elbuluk, "Melasma: An up-To-Date Comprehensive Review," *Dermatology and Therapy* 7, no. 3 (2017): 305–318.
5. E. Bostan and A. Cakir, "The Dermoscopic Characteristics of Melasma in Relation to Different Skin Phototypes, Distribution Patterns and Wood Lamp Findings: A Cross-Sectional Study of 236 Melasma Lesions," *Archives of Dermatological Research* 315, no. 7 (2023): 1927–1938.
6. J. P. Ortonne, I. Arellano, M. Berneburg, et al., "A Global Survey of the Role of Ultraviolet Radiation and Hormonal Influences in the Development of Melasma," *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 23, no. 11 (2009): 1254–1262.
7. E. H. Kim, Y. C. Kim, E. S. Lee, and H. Y. Kang, "The Vascular Characteristics of Melasma," *Journal of Dermatological Science* 46, no. 2 (2007): 111–116.
8. R. Hernandez-Barrera, B. Torres-Alvarez, J. P. Castanedo-Cazares, C. Oros-Ovalle, and B. Moncada, "Solar Elastosis and Presence of Mast Cells as Key Features in the Pathogenesis of Melasma," *Clinical and Experimental Dermatology* 33, no. 3 (2008): 305–308.
9. S. H. Kwon, Y. J. Hwang, S. K. Lee, and K. C. Park, "Heterogeneous Pathology of Melasma and Its Clinical Implications," *International Journal of Molecular Sciences* 17, no. 6 (2016): 824.
10. N. H. Kim and A. Y. Lee, "Histamine Effect on Melanocyte Proliferation and Vitiliginous Keratinocyte Survival," *Experimental Dermatology* 19, no. 12 (2010): 1073–1079.
11. E. Crivellato, B. Nico, and D. Ribatti, "Mast Cells and Tumour Angiogenesis: New Insight From Experimental Carcinogenesis," *Cancer Letters* 269, no. 1 (2008): 1–6.
12. I. Fajardo and G. Pejler, "Human Mast Cell Beta-Tryptase Is a Gelatinase," *Journal of Immunology* 171, no. 3 (2003): 1493–1499.
13. H. Konisky, E. Balazic, J. A. Jaller, U. Khanna, and K. Kobets, "Tranexamic Acid in Melasma: A Focused Review on Drug Administration Routes," *Journal of Cosmetic Dermatology* 22, no. 4 (2023): 1197–1206.
14. P. Babilas, S. Schreml, R. M. Szeimies, and M. Landthaler, "Intense Pulsed Light (IPL): A Review," *Lasers in Surgery and Medicine* 42, no. 2 (2010): 93–104.
15. M. I. Bae, J. M. Park, K. H. Jeong, M. H. Lee, and M. K. Shin, "Effectiveness of Low-Fluence and Short-Pulse Intense Pulsed Light in the Treatment of Melasma: A Randomized Study," *Journal of Cosmetic and Laser Therapy* 17, no. 6 (2015): 292–295.
16. L. Figueiredo Souza and S. Trancoso Souza, "Single-Session Intense Pulsed Light Combined With Stable Fixed-Dose Triple Combination Topical Therapy for the Treatment of Refractory Melasma," *Dermatologic Therapy* 25, no. 5 (2012): 477–480.

-
17. L. Fang, M. H. Gold, and L. Huang, "Melasma-Like Hyperpigmentation Induced by Intense Pulsed Light Treatment in Chinese Individuals," *Journal of Cosmetic and Laser Therapy* 16, no. 6 (2014): 296–302.
 18. X. Dai, S. Jin, Y. Xuan, et al., "590 Nm LED Irradiation Improved Erythema Through Inhibiting Angiogenesis of Human Microvascular Endothelial Cells and Ameliorated Pigmentation in Melasma," *Cells* 11, no. 24 (2022): 3949.
 19. J. Yuan, Y. Gao, L. Pi, et al., "Novel Technique for Rosacea Treatment Using Optimal Pulse Technology: In Vivo and Clinical Studies," *Journal of Cosmetic Dermatology* 21, no. 12 (2022): 6767–6775.
 20. J. Y. Mun, S. Y. Jeong, J. H. Kim, S. S. Han, and I. H. Kim, "A Low Fluence Q-Switched Nd:YAG Laser Modifies the 3D Structure of Melanocyte and Ultrastructure of Melanosome by Subcellular-Selective Photothermolysis," *Journal of Electron Microscopy* 60, no. 1 (2011): 11–18.
 21. H. Gokalp, A. D. Akkaya, and Y. Oram, "Long-Term Results in LowFluence 1064-Nm Q-Switched Nd:YAG Laser for Melasma: Is It Effective?," *Journal of Cosmetic Dermatology* 15, no. 4 (2016): 420–426.
 22. Y. Wong, S. S. Lee, and C. L. Goh, "Hypopigmentation Induced by Frequent Low-Fluence, Large-Spot-Size QS Nd:YAG Laser Treatments," *Annals of Dermatology* 27, no. 6 (2015): 751–755.
 23. T. Yamashita, K. Negishi, T. Hariya, et al., "Intense Pulsed Light Therapy for Superficial Pigmented Lesions Evaluated by ReflectanceMode Confocal Microscopy and Optical Coherence Tomography," *Journal of Investigative Dermatology* 126, no. 10 (2006): 2281–2286.
 24. Y. H. Li, J. Z. Chen, H. C. Wei, et al., "Efficacy and Safety of Intense Pulsed Light in Treatment of Melasma in Chinese Patients," *Dermatologic Surgery* 34, no. 5 (2008): 693–700, discussion 700–691.
 25. S. Wenzel, M. Landthaler, and W. Baumler, "Recurring Mistakes in Tattoo Removal. A Case Series," *Dermatology* 218, no. 2 (2009): 164–167.
 26. M. S. Kim, Y. K. Kim, D. H. Lee, et al., "Acute Exposure of Human Skin to Ultraviolet or Infrared Radiation or Heat Stimuli Increases Mast Cell Numbers and Tryptase Expression in Human Skin In Vivo," *British Journal of Dermatology* 160, no. 2 (2009): 393–402.
 27. O. Kholmanskikh, N. van Baren, F. Brasseur, et al., "Interleukins 1alpha and 1beta Secreted by Some Melanoma Cell Lines Strongly Reduce Expression of MITF-M and Melanocyte Differentiation Antigens," *International Journal of Cancer* 127, no. 7 (2010): 1625–1636.
 28. M. Singh, S. D. Jadeja, J. Vaishnav, et al., "Investigation of the Role of Interleukin 6 in Vitiligo Pathogenesis," *Immunological Investigations* 51, no. 1 (2022): 120–137.
 29. R. J. Starner, L. McClelland, Z. Abdel-Malek, A. Fricke, and G. Scott, "PGE(2) is a UVR-Inducible Autocrine Factor for Human Melanocytes That Stimulates Tyrosinase Activation," *Experimental Dermatology* 19, no. 7 (2010): 682–684.
 30. J. I. Na, S. Y. Choi, S. H. Yang, H. R. Choi, H. Y. Kang, and K. C. Park, "Effect of Tranexamic Acid on Melasma: A Clinical Trial With Histological Evaluation," *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 27, no. 8 (2013): 1035–1039.
 31. P. Jiang, Y. Liu, J. Zhang, et al., "Mast Cell Stabilization: New Mechanism Underlying the Therapeutic Effect of Intense Pulsed Light on Rosacea," *Inflammation Research* 72, no. 1 (2023): 75–88.
 32. H. Y. Kang, J. S. Hwang, J. Y. Lee, et al., "The Dermal Stem Cell Factor and c-Kit Are Overexpressed in Melasma," *British Journal of Dermatology* 154, no. 6 (2006): 1094–1099.
 33. D. Elieh Ali Komi, S. Wohrl, and L. Bielory, "Mast Cell Biology at Molecular Level: A Comprehensive Review," *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 58, no. 3 (2020): 342–365.
 34. H. Y. Kang, P. Bahadoran, I. Suzuki, et al., "In Vivo Reflectance Confocal Microscopy Detects Pigmentary Changes in Melasma at a Cellular Level Resolution," *Experimental Dermatology* 19, no. 8 (2010): e228–e233.
 35. N. Masub, J. K. Nguyen, E. Austin, and J. Jagdeo, "The Vascular Component of Melasma: A Systematic Review of Laboratory, Diagnostic, and Therapeutic Evidence," *Dermatologic Surgery* 46, no. 12 (2020): 1642–1650.
 36. T. Passeron, "Long-Lasting Effect of Vascular Targeted Therapy of Melasma," *Journal of the American Academy of Dermatology* 69, no. 3 (2013): e141–e142.

-
37. W. Baumler, E. Vural, M. Landthaler, F. Muzzi, and G. Shafirstein, "The Effects of Intense Pulsed Light (IPL) on Blood Vessels Investigated by Mathematical Modeling," *Lasers in Surgery and Medicine* 39, no. 2 (2007): 132–139.
 38. M. Kim, S. M. Kim, S. Kwon, T. J. Park, and H. Y. Kang, "Senescent Fibroblasts in Melasma Pathophysiology," *Experimental Dermatology* 28, no. 6 (2019): 719–722.
 39. A. C. C. Esposito, G. Brianezi, L. D. B. Miot, and H. A. Miot, "Fibroblast Morphology, Growth Rate and Gene Expression in Facial Melasma," *Anais Brasileiros de Dermatologia* 97, no. 5 (2022): 575–582.
 40. Y. Xiao, L. Zhou, W. Tao, et al., "Preparation of PaeoniflorinGlycyrrhizic Acid Complex Transethosome Gel and Its Preventive and Therapeutic Effects on Melasma," *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 192 (2024): 106664.
 41. A. C. C. Espósito, D. P. Cassiano, C. N. da Silva, et al., "Update on Melasma-Part I: Pathogenesis," *Dermatology and Therapy* 12, no. 9 (2022): 1967–1988.
 42. Z. X. Liang, M. R. Wang, X. J. Xiang, and Y. Zhao, "Treatment With Injectable Platelet-Rich Fibrin in a Rat Model of Melasma," *European Journal of Dermatology* 33, no. 5 (2023): 487–494.
 43. F. Song, Y. Wang, X. G. Wei, et al., "Proteomic Analysis of Two Different Methods to Induce Skin Melanin Deposition Models in Guinea Pigs," *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 16 (2023): 2341–2356.
 44. T. B. El-Abaseri, S. Putta, and L. A. Hansen, "Ultraviolet Irradiation Induces Keratinocyte Proliferation and Epidermal Hyperplasia Through the Activation of the Epidermal Growth Factor Receptor," *Carcinogenesis* 27, no. 2 (2006): 225–231.
 45. N. P. Sanchez, M. A. Pathak, S. Sato, T. B. Fitzpatrick, J. L. Sanchez, and M. C. Mihm, Jr., "Melasma: A Clinical, Light Microscopic, Ultrastructural, and Immunofluorescence Study," *Journal of the American Academy of Dermatology* 4, no. 6 (1981): 698–710.

Дополнительные материалы

Дополнительные материалы 1: [jocd70443-sup-0001-datas1.pdf](#)