

DOI: 10.21802/artm.2020.3.15.160.

УДК 616.5-003.829.85-085.36-092+615.831

КЛІНІКО-ГІСТОЛОГІЧНІ Й ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ЗІСТАВЛЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ УРАЖЕННЯ ШКІРИ У ХВОРИХ НА ВІТИЛІГО

В.О. Цепколенко, К.С. Карпенко

*Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шурика,
кафедра дерматовенерології, м. Київ, Україна,
ORCID ID: 0000-0001-5885-6969, e-mail: office@virtus.ua,
ORCID ID: 0000-0002-9527-1588, e-mail: katerina@karpenko.od.ua*

Резюме. Вітиліго – це придбане ідіопатичне захворювання, що характеризується наявністю чітко окреслених депігментованих плям у результаті прогресуючої втрати меланоцитів. Актуальність проблеми пов'язана з вираженим негативним впливом на психологічний стан пацієнтів, значною кількістю хворих молодого репродуктивного віку та відсутністю надійних терапевтичних алгоритмів.

Мета роботи: вивчити гістологічні та імуногістохімічні зміни ураженої шкіри у хворих на вітиліго і виявити гендерні її особливості.

Методи. Під нашим спостереженням перебувало 107 хворих на вітиліго у віці від 19 до 65 років, з них 45 чоловіків і 62 жінки. Проведено морфологічні, імуногістохімічні і морфометричні дослідження ураженої шкіри у 107 хворих.

Результати дослідження. Зіставлення проведених комплексних клініко-гістологічних та імуногістохімічних досліджень виявило відсутність або недостатню кількість меланоцитів в ділянках ураженої шкіри, дистрофічні зміни кератиноцитів, необхідних для регулювання росту і диференціації меланоцитів. Виявлені зміни служать обґрунтуванням використання в лікуванні хворих на вітиліго клітинних технологій, спрямованих на заповнення недостатньої кількості меланоцитів в ураженій шкірі та відновлення нормального функціонування кератиноцитів.

Висновки. Проведені дослідження показали, що у хворих на вітиліго присутні зміни в епідермісі: гіперкератоз, акантоз, вогнищевий гранулоз; в дермі – помірні судинні реакції, вогнищеві лімфогістіоцитарні інфільтрати, характерним для яких було значне число CD3 клітин і переважання CD4 клітин над CD8. Показані гендерні особливості цих змін. Використання специфічного фарбування показало відсутність меланоцитів в епідермісі всіх досліджуваних випадків, що є характерним для вітиліго, і виявлення поодиноких клітин Лангерганса в дермальному інфільтраті.

Ключові слова: вітиліго, меланоцити, кератиноцити, клітинні технології, гістологія.

Вступ. Вітиліго – це хронічний дерматоз, що відноситься до групи дисхромій, характеризується порушенням пігментації, що проявляється у вигляді різко обмежених депігментованих плям молочно-білого кольору різної величини і конфігурації. За даними ВООЗ, на вітиліго страждає 0,5-8,2% всього населення світу, це становить близько 40 мільйонів людей. У структурі шкірних захворювань 3-4% припадає на вітиліго. Половина всіх випадків зустрічається в 10-30-річному віці. Чоловіки і жінки схильні до захворювання в рівній мірі. Актуальність проблеми цієї хвороби пов'язана з вираженим негативним впливом на соціально-психологічний стан пацієнтів: вітиліго нерідко викликає серйозні емоційно-психологічні розлади. Дерматологічний індекс якості життя хворих вітиліго становить 4,95, що значно нижче порівняно з якістю життя при атопічному дерматиті, вугровій хворобі і вульгарному псоріазі [1, 2].

Обґрунтування дослідження. Відповідно до розроблених протоколів, лікування вітиліго проводиться з урахуванням активності дерматозу, локалізації висипань і ступеня тяжкості процесу [3, 4, 5]. Традиційна терапія вітиліго включає застосування вітамінотерапії, гіпосенсибілізаторів, гепатопротекторів, в

важких випадках – системних кортикостероїдних гормонів, топічних стероїдів, топічних інгібіторів кальціоневрину [5]. Широко застосовують фототерапію: псорален і UVA, вузькосмуговий UVB 311нм, що не завжди призводить до задовільного результату. Тривале і послідовне застосування UVB фототерапії тільки у половини хворих дозволяє досягти 75% репігментації [4, 5].

З огляду на торпідність вітиліго до проведеної традиційної терапії в останнє десятиліття в лікуванні хворих широко використовують регенераційні технології тканинного графтингу (епідермальний блистерний графтинг, панч-графтинг всієї товщини шкіри, тонкі дермоепідермальні спліт-графти, фолікулярний графтинг) і клітинного графтингу (культивовані або некультивовані клітинні суспензії меланоцитів і кератиноцитів) [5, 6].

Результати проведених клініко-інструментальних, імунологічних і біохімічних досліджень служать обґрунтуванням до розробки комплексного методу лікування хворих на вітиліго з використанням, поряд з традиційною терапією і UVB 311нм фототерапією, методик клітинних технологій –

меланоцитарно-кератиноцитарної суспензії (МКС) і аутомезоконцентрату (АМК) [7, 8, 9].

Поєднання з UVB 311 нм фототерапією дозволяє значно зменшити кількість клітин, що вводяться, при збереженні вираженого значного результату лікування заявленим способом, що має зробити його фінансово доступним для широкого впровадження [10, 11, 12].

Мета дослідження: вивчити гістологічні та імуногістохімічні зміни ураженої шкіри у хворих на вітиліго, виявити їх гендерні особливості.

Матеріали і методи. Під нашим спостереженням перебувало 107 хворих на вітиліго I-IV фототипів за Фіцпатриком у віці від 19 до 65 років, з них 45 (42,06%) чоловіків і 62 (57,94%) жінки. Відповідно до загальноприйнятих рекомендацій [1] виділяли наступні форми вітиліго: вогнищеву, яка спостерігалася у 29 (27,1%) хворих, і генералізовану, яка була у 78 (72,9%) хворих. Залежно від активності процесу виділяли наступні стадії: прогресуючу, стабільну і стадію репігментації. У більшості наших хворих на момент включення в дослідження була стабільна стадія захворювання – у 98 (91,6%) хворих і у 9 (8,4%) хворих спостерігали стадію репігментації. До включення в дослідження всіма пацієнтами була підписана інформована згода.

Для проведення морфологічних, імуногістохімічних (ІГХ) і морфометричних досліджень всім хворим із дотриманням етичних норм під місцевою інфільтраційною анестезією (2% лідокаїном після попередньої проби) були проведені панч-біопсії ділянок вітиліго панчами діаметром 3,5 мм з наступним гістологічним дослідженням.

Панч-біоптати фіксували в 10% забуференому формаліні і заливали в парафін. На прецизійному ротаційному мікротомі НМ 3600 («MICROM Laborgerate GmbH» – Німеччина) виготовляли серійні стандартні зрізи товщиною 4 мкм, які розміщували на звичайні предметні скельця (для оглядового патогістологічного забарвлення) або на адгезивні предметні скла «SUPER FROST PLUS» фірми «DAKO» (Данія) – для імуногістохімічних досліджень.

Загальнопатологічні зміни шкіри, наявність і характер запального інфільтрату в дермі визначали при мікроскопії мікропрепаратів, забарвлених гематоксиліном і еозином, при збільшенні $\times 10$, $\times 40$ з використанням мікроскопа ERMA Inc. (Model: EZ 122, Японія).

ІГХ дослідження виконувалися в парафінових зрізах з використанням моноклональних і поліклональних антитіл. Оцінку результатів ІГХ-реакції проводили на мікроскопі ERMA Inc. (Model: EZ 122, Японія) і документували цифровою фотокамерою Camedia C5060WZ (Olympus, Японія).

Імуногістохімічне дослідження включало визначення CD3 (DAKO, поліклональні), CD4 (DAKO, клон 4B12), CD8 (DAKO, клон C8 / 144B), S100 (DAKO, поліклональні) і Мелан А (DAKO, клон A103).

Дослідження проводилися до початку лікування, повторні дослідження заплановані до проведення через 16 тижнів після початку лікування.

Статистичний аналіз проводили з використанням мови програмування R R-3.6.3 для Windows (GNU General Public License). Дані були представлені у кількості пацієнтів (n) та відсотках пацієнтів (%). Аналіз якісних даних проводився за допомогою точного тесту Фішера. Рівень значущості вважався 0,05 для всіх тестів.

Результати дослідження. Проведено морфологічні, імуногістохімічні і морфометричні дослідження ураженої шкіри у 107 хворих на вітиліго.

У всіх досліджуваних матеріалах структура шкіри мала звичайні характеристики.

В епідермісі різного ступеня вираженості гіперкератоз був у 58 (54,2%) спостереженнях, з них у 24 (53,3%) чоловіків і 34 (54,8%) жінок. Ортокератоз спостерігався у 49 (45,8%) хворих, з них у 21 (46,7%) чоловіків і 28 (45,2%) жінок. Вогнищевий гіпергранульоз виявлено в 36 (33,6%) спостережень, з них у 16 (35,5%) чоловіків і 20 (32,3%) жінок. Нерізко виражений акантоз епідермісу спостерігався в 31 (29%) біоптатів, з них у 12 (26,7%) чоловіків і 19 (30,6%) жінок. Епідермальний спонгіоз спостерігався у 95 (88,8%) пацієнтів, з них у 39 (86,7%) чоловіків і 56 (90,3%) жінок і проявлявся переважно вакуольною дегенерацією базальних кератиноцитів. Інтактний епідерміс був в 39 (36,4%) спостережень, з них у 17 (37,8%) чоловіків і 22 (35,5%) жінок (рис. 1, 2). Однак, не було виявлено достовірної різниці у гіперкератозі ($p=1$), гранульозі ($p=0,836$), акантозі ($p=0,673$) та спонгіозі ($p=0,554$) між чоловіками та жінками.

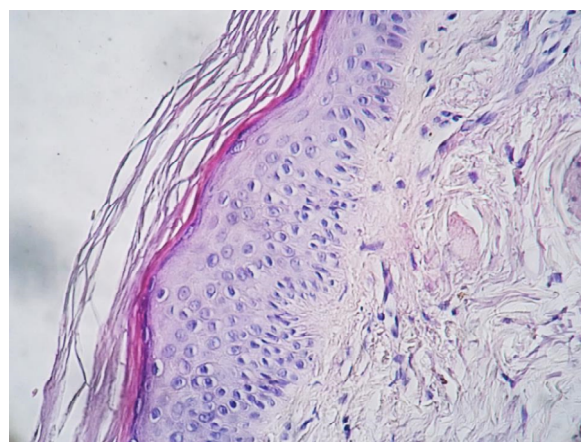


Рис. 1. Хворий А., 38 р., амб. к. № 411 від 2.08.2017р.

Діагноз: вітиліго, генералізована форма, змішаний тип, стабільна стадія. До лікування: в епідермісі – помірний гіперкератоз, гранульоз, вакуолізація кератиноцитів шиповатого і базального шарів. Дермо-епідермальна межа збережена. У дермі – слабо виражений лімфогістіоцитарний інфільтрат. Забарвлення гематоксилін-еозин, 3б.: $\times 10$

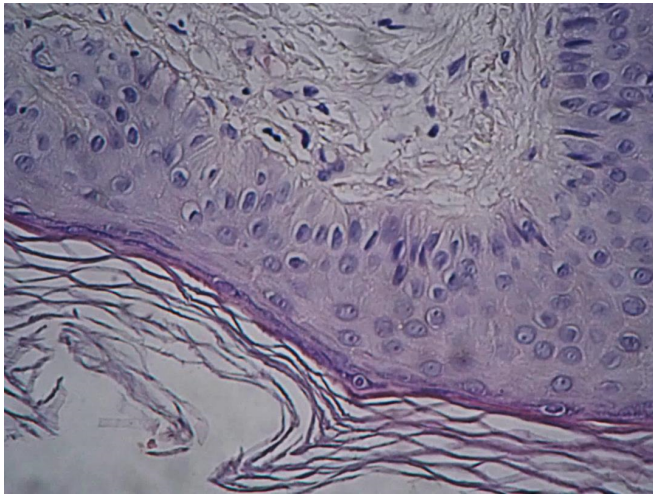


Рис. 2. Хвора С., 59 р., амб. к. № 071 від 7.11.2017р.

Діагноз: вітиліго, локальна форма, вогнищевий тип, стабільна стадія. До лікування: гістологічно в епідермісі – виражений гіперкератоз, гранульоз, в шиповатому і базальному шарах – вакуолізація кератиноцитів і спонгіоз. Дермо-епідермальна межа збережена. У дермі – помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація. Забарвлення гематоксилін-еозин, Зб.:х20

При звичайному фарбуванні гематоксилін-еозином меланоцити не виявлялись. При фарбуванні по Мелан-А меланоцити в базальному шарі епідермісу були повністю відсутні в 107 (100%) спостережень. При використанні фарбування на S100 позитивна реакція в дендрітичних клітинах відзначена у 34 (31,8%) пацієнтів, з них у 13 (28,9%) чоловіків і 21 (33,9%) жінок.

Дермо-епідермальна межа у всіх спостереженнях була збереженою.

У підлеглий дермі збільшення кількості судин мікроциркуляторного русла виявлено у 52 (48,6%) пацієнтів, з них у 21 (46,7%) чоловіка і 31 (50,0%) жінки. Периваскулярні лімфогістіоцитарні інфільтрати слабо або не різко виражені спостерігалися у всіх обстежуваних зразках (табл. 1).

Аналогічна тенденція простежується і щодо збільшення судин мікроциркуляторного русла дерми, яке відзначали у 31 (50,0%) жінки і лише у 21 (46,7%) чоловіка.

Помірно виражений лімфогістіоцитарний інфільтрат був також у більшій частині жінок, ніж у чоловіків – у 23 (37,1%) і у 15 (33,3%) хворих на вітиліго відповідно. Однак не було виявлено достовірної різниці у збільшенні кількості судин мікроциркуляторного русла ($p=0,845$) та враженості лімфогістіоцитарного інфільтрату ($p=0,838$) між чоловіками та жінками.

Таблиця 1

Гістологічні параметри у хворих на вітиліго в обстежуваній групі

Параметр	Всі пацієнти (n=107)		Чоловіків (n=45)		Жінок (n=62)		p-value
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Гіперкератоз	58	54,2	24	53,3	34	54,8	1
Гранульоз	36	33,6	16	35,5	20	32,3	0,836
Акантоз	31	29,0	12	26,7	19	30,6	0,673
Спонгіоз	95	88,8	39	86,7	56	90,3	0,554
Збільшення судин мікроциркуляторного русла дерми	52	48,6	21	46,7	31	50,0	0,845
Лімфогістіоцитарний інфільтрат відсутній	0	0	0	0	0	0	0.838
слабо виражений	69	64,5	30	66,7	39	62,9	
помірно виражений	38	35,5	15	33,3	23	37,1	
різко виражений	0	0	0	0	0	0	

При імуногістохімічному дослідженні при фарбуванні на CD3 клітини позитивна реакція відзначалася лише в поодиноких або нечисленних Т-лімфоцитах, розташованих периваскулярно, в цих же зонах відзначається позитивна реакція на CD4 і CD8 Т-лімфоцити, при цьому кількість Т-лімфоцитів CD4 > CD8.

При проведенні імуногістохімічних реакцій на CD3 клітини (ДАКО, поліклональні) позитивна реакція виявлена практично у всіх лімфоцитах дермального інфільтрату. При дослідженні на CD4 клітини (ДАКО, клон 4B12) позитивна реакція виявлена в більшій частині лімфоцитів інфільтрату, в той час як при дослідженні CD8 клітин (ДАКО, клон C8 / 144B),

позитивна реакція виявлена лише в поодиноких клітинах дермального інфільтрату.

Імуногістохімічні дослідження з використанням S100 (ДАКО, поліклональні) дозволили виявити позитивну реакцію в клітинах Лангерганса, розташованих в периваскулярному інфільтраті дерми, в поодиноких клітинах інфільтрату підшкірної жирової клітковини і відсутність подібних клітин в епідермісі (рис. 3).

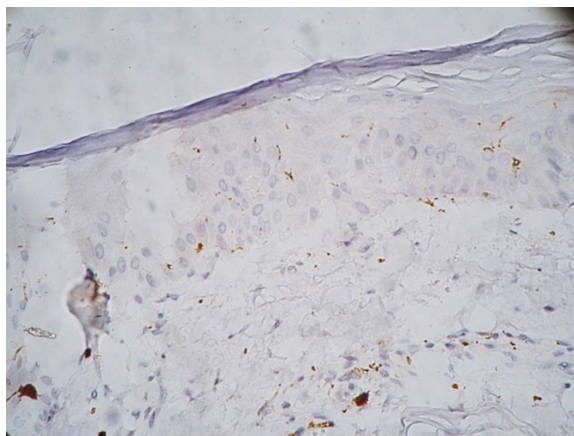


Рис. 3. Хвора М., 39 р., амб. к. № 112 від 6.03.2017р. Діагноз: вітиліго, генералізована форма, змішаний тип, стабільна стадія. При імуногістохімічному дослідженні при фарбуванні на S-100: в епідермісі меланоцити не визначаються. Зб.: x10

При гендерному аналізі при імуногістохімічних дослідженнях привертало увагу те, що CD3 (ДАКО, поліклональні) істотно не відрізнялися у чоловіків і жінок. Так, кількість пацієнтів, які виявили відповідну позитивну реакцію, серед чоловіків – 43 (95,6%), серед жінок – 59 (95,2%). Більш виражені відмінності були по CD4 (ДАКО, клон 4B12), позитивна реакція на які виявлена у 36 (80,0%) чоловіків і у 51 (82,3%) жінки. Найбільш виражені гендерні відмінності були за виявленими CD8 (ДАКО, клон C8 / 144B) клітинами – у 41 (66,1%) жінки і лише у 28 (62,2%) чоловіків. Подібна тенденція виявлялася і при використанні фарбування S100 (ДАКО, поліклональні), які були виявлені у 21 (33,9%) жінки і лише у 13 (28,9%) чоловіків (табл. 2). Однак не було виявлено достовірної різниці у кількості CD3 ($p=1$), CD4 ($p=0,805$), CD8 ($p=0,688$) та S100 ($p=0,676$) між чоловіками та жінками.

Таблиця 2

Імуногістохімічні параметри у хворих на вітиліго в обстежуваній групі

Параметр	Всі пацієнти (n=107)		Чоловіків (n=45)		Жінок (n=62)		p-value
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
CD3 (ДАКО, поліклональні)	102	95,3	43	95,6	59	95,2	1
CD4 (ДАКО, клон 4B12)	87	81,3	36	80,0	51	82,3	0,805
CD8 (ДАКО, клон C8 / 144B)	69	64,5	28	62,2	41	66,1	0,688
S100 (ДАКО, поліклональні)	34	31,8	13	28,9	21	33,9	0,676
Мелан А (ДАКО, клон А103)	0	0	0	0	0	0	

Таким чином, проведені комплексні гістологічні та імуногістохімічні дослідження показали, що у хворих на вітиліго є особливості змін в епідермісі, які полягають у нерізко вираженому гіперкератозі, акантозі, вогнищевому слабко вираженому гранульозі; в дермі – помірні судинні реакції з незначно збільшеною кількістю судин мікроциркуляторного русла; вогнищевими, переважно периваскулярними лімфогістіоцитарними інфільтратами, характерним для яких було значне число CD3 клітин і переважання CD4 клітин над CD8 клітинами. Показані гендерні особливості цих змін.

Використання специфічного фарбування (Мелан А, на S100) показало відсутність меланоцитів в епідермісі у всіх досліджуваних випадках, що є характерним для вітиліго, і виявлення поодиноких клітин Лангерганса в дермальному інфільтраті. Порухення співвідношення CD4 /CD8 лімфоцитів в периваскулярному дермальному інфільтраті відображає значимість імунологічних порушень у розвитку вітиліго.

Узагальнюючи проведені нами комплексні гістологічні та імуногістохімічні дослідження, відзначимо, що в епідермісі виявлені різного ступеня вираженості гіперкератоз, гранульоз, спонгіоз і вакуолізація базальних кератиноцитів, що супроводжується відсутністю Мелан А позитивних і S100 позитивних клітин, тобто відсутністю меланоцитів; в дер-

мі, поряд з помірною судинною реакцією, виявляли периваскулярні лімфогістіоцитарні інфільтрати, які при імуногістохімічному фарбуванні виявляли позитивну реакцію на CD3 Т-лімфоцити, позитивну реакцію на CD4 і CD8 клітини, при цьому CD4 > CD8.

Обговорення результатів. Вважають, що прогресуюча і стабільна стадії вітиліго, як клінічно, так і гістологічно, можуть відповідати двом послідовним фазам захворювання [14]. Дебют гіпопигментованих плям супроводжується появою поверхневого периваскулярного лімфогістіоцитарного інфільтрату в дермі. Основною гістологічною ознакою стабільної стадії вітиліго є лише помітна відсутність меланіну в епідермісі, тоді як запальні зміни вже можуть регресувати.

Раніше проведеними дослідженнями було показано, що клінічно вогнища вітиліго мають тенденцію до поширення з різною швидкістю з відцентровим збільшенням і периферійним зростанням вогнищ. Водночас втрата пігментних клітин відбувається поступово, при цьому не тільки в осередках депігментації, але і по периферії. Саме тому співіснування стабільної і прогресуючої стадій вітиліго спостерігається вкрай рідко [15].

Є тісний взаємозв'язок між клінічними особливостями вітиліго і гістологічними змінами, між гістопатологічними даними і активністю вітиліго, а

також між клінічними особливостями вітиліго і активністю захворювання [16].

Ймовірно, клінічні особливості вогнищ вітиліго можуть свідчити про активність процесу і патогістологічних змін, що лежать в їх основі. Так, осередки вітиліго з чіткими контурами, можуть вказувати на стан стабільності, в той час як нечіткі або розмиті межі вогнищ можуть розглядатися як маркери активності процесу з запальними змінами і тріхромією [15].

Проведені нами комплексні гістологічні та імуногістохімічні дослідження виявили у хворих на вітиліго, поряд з відсутністю меланоцитів в епідермісі в осередках ураження, нерізко виражені дистрофічні зміни в ньому (спонгіоз і вакуолізація базальних кератиноцитів, гіпер- і ортокератоз, гранульози), різного ступеня вираженості порушення судин мікроциркуляторного русла дерми і осередкові, переважного периваскулярні запальні лімфогістіоцитарні інфільтрати з імуногістохімічними маркерами CD3, CD4 і CD8 Т-лімфоцитів, при цьому кількість Т-лімфоцитів CD4 > CD8.

Зіставлення проведених комплексних клініко-гістологічних та імуногістохімічних досліджень виявило відсутність або недостатню кількість меланоцитів в ділянках ураженої шкіри, дистрофічні зміни кератиноцитів, необхідних для регулювання росту і диференціації меланоцитів. Виявлені зміни послужили обґрунтуванням використання в лікуванні хворих на вітиліго методик клітинних технологій, спрямованих на заповнення недостатньої кількості меланоцитів в ураженій шкірі і відновлення нормального функціонування кератиноцитів.

Висновки:

1. Проведені комплексні патогістологічні дослідження показали, що у хворих на вітиліго в епідермісі присутні особливості змін, які полягали в нерізко вираженому гіперкератозі, акантозі, вогнищевому слабо вираженому гранульозі, спонгіозі.
2. Проведені комплексні патогістологічні дослідження показали, що у хворих на вітиліго спостерігалися помірні судинні реакції з дещо збільшеною кількістю судин мікроциркуляторного русла.
3. Проведені комплексні патогістологічні дослідження показали, що у хворих на вітиліго в дермі спостерігалися вогнищеві, переважно периваскулярні слабо або помірно виражені лімфогістіоцитарні інфільтрати у всіх обстежуваних зразках.
4. При гендерному аналізі особливостей гістологічних змін в обстеженій групі хворих можна відзначити, що у жінок із вітиліго частіше виявляли спонгіоз, збільшення судин мікроциркуляторного русла дерми і помірно виражений лімфогістіоцитарний інфільтрат, ніж у чоловіків.
5. При імуногістохімічному дослідженні при фарбуванні на CD3 клітини позитивна реакція відзначалася лише в поодиноких або нечисленних Т-лімфоцитах, розташованих периваскулярно, в цих же зонах відзначається позитивна реакція на CD4 і CD8 Т-лімфоцити, при цьому кількість Т-лімфоцитів CD4 > CD8. При проведенні імуногістохімічних реакцій на CD3 клітини (ДАКО, поліклональні) позитивна реак-

ція виявлена практично у всіх лімфоцитах дермального інфільтрату, на CD4 клітини (ДАКО, клон 4B12) – в більшій частині лімфоцитів інфільтрату, на CD8 клітин (ДАКО, клон C8 / 144B) – лише в поодиноких клітинах дермального інфільтрату. Імуногістохімічні дослідження з використанням S100 (ДАКО, поліклональні) дозволили виявити позитивну реакцію в клітинах Лангерганса, розташованих в периваскулярному інфільтраті дерми, в поодиноких клітинах інфільтрату підшкірної жирової клітковини і відсутність подібних клітин в епідермісі. Використання специфічного фарбування (Мелан А, на S100) показало відсутність меланоцитів в епідермісі у всіх досліджуваних випадках, що характерно для вітиліго, і виявлення поодиноких клітин Лангерганса в дермальному інфільтраті.

References:

1. Bolognia JL, Schaffer JV, Cerroni L. Dermatology. 4th ed. China: Elsevier. Vitiligo and other disorders of hypopigmentation. 2018; 66:1250-61.
2. Salzes C, Abadie S, Seneschal J, Whitton M, Meurant J, Jouary T, et al. The Vitiligo Impact Patient Scale (VIPs): Development and Validation of a Vitiligo Burden Assessment Tool. J Invest Dermatol [Internet]. 2016; Jan [cited 2020 Jan], 136(1):52-8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26763423> DOI: 10.1038/JID.2015.398
3. Lomonosov KM, Gereichanova LG. Algoritm lecheniya vitiligo. Russian Journal of Skin and Venereal Diseases. 2016; 19(3):167-9.
4. Nargis KN, Shariq AA, Parveen N. The intricacies of vitiligo with reference to recent updates in treatment modalities. Eur J Pharm Med Res [Internet]. 2017; Jan [cited 2020 Jan], 5(02):187-96. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/323472025> The intricacies of vitiligo with reference to recent updates of treatment modalities
5. Iannella G, Greco A, Didona D, Didona B, Granata G, Manno A, et al. Vitiligo: Pathogenesis, clinical variants and treatment approaches. Autoimmun Rev [Internet]. 2016; Apr [cited 2016 Apr], 15(4):335-43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26724277> DOI: 10.1016/j.autrev.2015.12.006
6. Mohammad TF, Hamzavi IH. Surgical Therapies for Vitiligo. Dermatol Clin [Internet]. 2017; Apr [cited 2019 Feb 1], 35(2):193-203. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28317528> DOI: 10.1016/j.det.2016.11.009
7. Tsepkoenko VA, Tsepkoenko GV, Karpenko KS, Pihteev DM, vynakhidnyky; Tsepkoenko VA, Tsepkoenko GV, Karpenko KS, Pihteev DM, patentovlasnyki. Sposib kompleksnogo likuvannia stabilnogo vitiligo. Patent Ukrainy No 99068. 2015; Trav, 12.
8. Tsepkoenko VA, Tsepkoenko GV, Karpenko KS, Pihteev DM, vynakhidnyky; Tsepkoenko VA, Tsepkoenko GV, Karpenko KS, Pihteev DM, patentovlasnyki. Sposib kompleksnogo likuvannia stabilnogo vitiligo. Patent Ukrainy No 116071. 2018; Sich, 25.
9. Mutalik S, Shah S, Sidwadkar V, Khoja M. Efficacy of Cyclosporine After Autologous Noncultured

- Melanocyte Transplantation in Localized Stable Vitiligo - A Pilot, Open Label, Comparative Study. *Dermatol Surg* [Internet]. 2017; Nov [cited 2018 Jan], 43(11):1339-1347. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28538030> DOI: 10.1097/DSS.0000000000001190
10. Tsepkoenko V, Karpenko K. Combined treatment of stable vitiligo using cell technologies. In: 24th World Congress of Dermatology [Internet]; 2019; June 10-15, Milan, Italy. Milan: International League of Dermatological Societies (ILDS). Available from: <https://www.wcd2019milan-dl.org/abstract-book/documents/abstracts/26-medical-therapies-pharmacology/combined-treatment-of-stable-vitiligo-4157.pdf>
 11. Tsepkoenko V, Karpenko K. Method of combined treatment of stable vitiligo treatment using cell technologies. In: 28th Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology [Internet]; 2019; October 9-13, Madrid, Spain. Madrid: European Academy of Dermatology and Venereology; 2019. P.101. Available from: <https://eadvmadrid2019.org/wp-content/uploads/2019/09/e-Poster-list.pdf>
 12. Tsepkoenko VA, Tsepkoenko GV, Pihteev DM, Samoilenko TV, Jaremenko KM, Samarskiy IM, vynakhidnyky; Tsepkoenko VA, patentovlasnyk. Sposib otrimannia kriolizatu trombocitiv ludini. Patent Ukainy No 112536. 2016; Grud 26.
 13. Lahiri K, Malakar S. The concept of stability of vitiligo: a reappraisal. *Indian J Dermatol* [Internet]. 2012; Mar [cited 2017 Oct], 57:83-9. Available from: https://www.researchgate.net/publication/225054619_The_Concept_of_Stability_of_Vitiligo_A_Reappraisal DOI: 10.4103/0019-5154.94271
 14. Benzekri L, Gauthier Y, Hamada S, Hassam B. Clinical features and histological findings are potential indicators of activity in lesions of common vitiligo. *Brit J Dermatol* [Internet]. 2012; Sept [cited 2017 May], 168(2):265-271. Available from: <https://online-library.wiley.com/doi/abs/10.1111/bjd.12034> DOI: 10.1111/bjd.12034
 15. Ezzedine K, Lim HW, Suzuki T, Katayama J. Revised classification/nomenclature of vitiligo and related issues: the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell Melanoma Res* [Internet]. 2012; March [cited 2017 Jan], 25E:1-13. Available from: https://www.researchgate.net/publication/221894820_Revised_classificationnomenclature_of_vitiligo_and_related_issues_The_Vitiligo_Global_Issues_Consensus_Conference DOI: 10.1111/j.1755-148X.2012.00997.x

УДК 616.5-003.829.85-085.36-092+615.831

КЛИНИКО-ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ СОПОСТАВЛЕНИЯ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОРАЖЕНИЯ КОЖИ У БОЛЬНЫХ ВИТИЛИГО

В.А. Цепколенко, Е.С.Карпенко

*Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, кафедра дерматовенерологии,
г. Киев, Украина,
ORCID ID: 0000-0001-5885-6969,
e-mail: office@virtus.ua,
ORCID ID: 0000-0002-9527-1588,
e-mail: katerina@karpenko.od.ua*

Резюме. Витилиго – приобретенное идиопатическое заболевание, характеризующееся наличием четко очерченных депигментированных пятен в результате прогрессирующей потери меланоцитов, Актуальность проблемы связана с выраженным негативным влиянием на психологическое состояние пациентов, значительным количеством больных молодого репродуктивного возраста и отсутствием надежных терапевтических алгоритмов.

Цель работы. Изучить гистологические и иммуногистохимические изменения пораженной кожи у больных витилиго и выявить гендерные их особенности.

Под нашим наблюдением находилось 107 больных витилиго от 19 до 65 лет, в том числе 45 мужчин и 62 женщины. Проведены морфологические, иммуногистохимические и морфометрические исследования пораженной кожи у 107 больных.

Сопоставление проведенных клинико-гистологических и иммуногистохимических исследований выявило отсутствие или недостаточное количество меланоцитов в участках витилиго, дистрофические изменения кератиноцитов, необходимых для регулирования роста и дифференциации меланоцитов. Выявленные изменения могут служить обоснованием использования в лечении больных витилиго клеточных технологий, направленных на восполнение недостатка меланоцитов в пораженной коже, и восстановление нормального функционирования кератиноцитов.

Проведенные исследования показали, что у больных витилиго присутствуют изменения в эпидермисе: гиперкератоз, акантоз; в дерме – очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты, характерным для которых является значительное число CD3 клеток и преобладание CD4 клеток над CD8. Показаны гендерные особенности этих изменений. Использование специфического окрашивания показало отсутствие меланоцитов в эпидермисе всех исследуемых образцов, что характерно для витилиго, и выявления отдельных клеток Лангерганса в дермальном инфильтрате.

Ключевые слова: витилиго, меланоциты, кератиноциты, клеточные технологии, гистология.

UDC 616.5-003.829.85-085.36-092+615.831

**HISTOLOGICAL AND
IMMUNOHISTOCHEMICAL COMPARISONS OF
THE FEATURES OF SKIN LESIONS IN VITILIGO
PATIENTS**

V.O. Tsepkolenko, K.S. Kateryna

*The Shupyk National Medical Academy of Postgraduate
Education, the Department of Dermatovenereology,
Kyiv, Ukraine,**ORCID ID: 0000-0001-5885-6969,**e-mail: office@virtus.ua,**ORCID ID: 0000-0002-9527-1588,**e-mail: katerina@karpenko.od.ua*

Abstract. Vitiligo is an idiopathic disease characterized by the presence of well-defined depigmented spots as a result of progressive melanocyte loss. The urgency of the problem is associated with a pronounced negative impact on the patients' psychological state, a significant number of young patients and the lack of reliable therapeutic algorithms. Traditional therapy of vitiligo includes the use of vitamin therapy, hepatoprotectors, in severe cases - systemic steroids, topical steroids and calcineurin inhibitors. Phototherapy is widely used: psoralen and UVA, narrowband UVB 311nm. Prolonged and consistent use of UVB phototherapy in only half of patients can achieve 75% repigmentation. Given the vitiligo resistance to traditional therapy, in the last decade widely used regenerative tissue grafting techniques (blister grafting, punch grafting, thin dermoepidermal split-grafts, follicular grafting, cell suspensions of melanocytes and keratinocytes). Conducted clinical-instrumental, immunological and biochemical studies served as a basis for the development of a comprehensive method of treatment of vitiligo patients using, along with traditional therapy and UVB 311nm phototherapy, cell technology techniques - melanocyte-keratinocyte suspension (MKS) and automesoconcentrate (AMC).

The aim of the work is to study histological and immune-histochemical changes of the affected skin in patients with vitiligo and to identify their gender characteristics.

We observed 107 vitiligo patients aged 19 - 65 years, including 45 (42.06%) men and 62 (57.94%) women. Morphological, immunohistochemical and morphometric studies of the affected skin in 107 patients with vitiligo were performed. General pathological changes of the skin, the presence of inflammatory infiltrate in the dermis were determined by microscopy of micropreparations stained with hematoxylin-eosin. Immunohistochemical study included determination of CD3 (DAKO, polyclonal), CD4 (DAKO, clone 4B12), CD8 (DAKO, clone C8 / 144B), S100 (DAKO, polyclonal) and Melan A (DAKO, clone A103).

Research results. Comparison of complex clinical-histological and immuno-histochemical studies revealed the absence or insufficient number of melanocytes in the affected skin, dystrophic changes of keratinocytes needed to regulate the growth and differentiation of melanocytes.

The identified changes justify the use in the treatment of patients with vitiligo cell technology techniques aimed at filling the insufficient number of melanocytes in the affected skin, and restoring the normal keratinocytes functioning.

Conclusions. Studies have shown that patients with vitiligo have changes in epidermis: hyperkeratosis, acanthosis, focal granulosis; in dermis - moderate vascular reactions, focal lymphohistiocytic infiltrates, which were characterized by a significant number of CD3 cells and the predominance of CD4 cells over CD8. Gender features of these changes are shown. The use of specific staining showed the absence of melanocytes in all studied epidermis, which is a characteristic of vitiligo, and the detection of single Langerhans cells in the dermal infiltrate.

Summarizing the conducted comparative analysis of histological and pathomorphological changes in patients with vitiligo, it can be assumed that the use of MKS and AMA will significantly expand the possibilities and increase the effectiveness of therapeutic strategies in vitiligo.

Keywords: vitiligo, melanocytes, keratinocytes, cell technologies, histology.

Стаття надійшла в редакцію 09.09.2020 р.