

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕПИГМЕНТИРОВАННЫХ УЧАСТКОВ КОЖИ БОЛЬНЫХ ВИТИЛИГО

© А. В. Ревущин,¹ Д. Ю. Пантелеев,¹ Л. Г. Захарова,¹
К. М. Ломоносов,² Г. В. Павлова^{1,*}

¹Институт биологии гена РАН, Москва, 119334

²1-й Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Москва, 119991;

* электронный адрес: lkorochkin@mail.ru

Методом иммуногистохимического анализа исследованы депигментированные участки — макулы депигментации и перимакулярные зоны — кожи больных витилиго. Показано, что клетки, содержащие маркер клеток меланоцитарного ряда TRP1, локализуются как в перимакулярных зонах, так и в макулах депигментации. В пределах макул депигментации все TRP-позитивные клетки тесно контактировали с базальной мембраной. В перимакулярных областях многие клетки, потерявшие контакт с базальной мембраной, локализовались в толще эпидермиса. Примерно 92 % TRP1-позитивных клеток перимакулярной зоны были также позитивны и на виментин. Эти клетки, многочисленные в перимакулярных зонах, практически отсутствовали в макулах депигментации. В перимакулярных зонах в непосредственной близости от макул депигментации локализовались плотные группы клеток, иммунопозитивные по транскрипционному фактору Snail, известному как индуктор эпителиально-мезенхимного перехода. В пределах макул депигментации такие клетки были чрезвычайно редки. Есть основания предполагать, что интенсивный процесс, сходный с эпителиально-мезенхимным переходом, может быть причиной гибели меланоцитов в перимакулярной области и, таким образом, препятствием для репигментации макул депигментации.

Ключевые слова: витилиго, виментин, TRP1, Snail, меланоциты, эпителиально-мезенхимный переход.

Принятые сокращения: МД — макулы депигментации, ЭМП — эпителиально-мезенхимный переход, GAP43 — белок, ассоциированный с ростом, белковый маркер периферических нервных волокон, Snail — транскрипционный фактор и репрессор транскрипции E-кадгерина, TRP1 — белок, связанный с тирозиназой (tyrosine related protein 1), SOX10 — транскрипционный фактор, маркер меланоцитарной дифференцировки.

Витилиго — кожное заболевание неясной этиологии, обусловленное нарушением процесса пигментации кожи с образованием депигментированных пятен (Кошеченко, 2002; Ломоносов 2010). По всей видимости, потеря пигментации при витилиго связана с нарушением функционирования меланоцитов, которые синтезируют меланин.

Существенное значение для разработки терапевтических методов имеет вопрос присутствия меланоцитов или их прекурсоров в пределах депигментированных участков кожи — макул депигментации (МД). Есть данные о том, что меланоциты отсутствуют в МД (Le Poole et al., 1993). Это подтверждается на электронно-микроскопическом уровне (Hann et al., 1992; Bartosik et al., 1998), однако оспаривается в других более поздних работах, в которых посредством световой и электронной микроскопии показано, что отдельные меланоциты все же присутствуют в эпидермисе МД (Tobin et al., 2000; Panuncio, Vignale, 2003; Seleit et al., 2014). Решающее значение для функционирования и жизнеспособности меланоцитов имеет их взаимодействие с окружающими их кератиноцитами и базальной мембраной. Ослабление адгезивных свойств

меланоцитов, обусловленных E-кадгерином, приводит к потере связи меланоцитов с базальной мембраной, их миграции к поверхности эпидермиса и их гибели (Wagner et al., 2015). Эти процессы показаны в нормально пигментированной коже больных витилиго, где меланоциты теряют связь с базальной мембраной под влиянием стрессорных фрикционных воздействий на ее поверхность (Gauthier et al., 2003).

Процесс открепления эпителиальных клеток от базальной мембраны характерен для эпителиально-мезенхимного перехода (ЭМП), который представляет собой глубокие биохимические изменения, ведущие к приобретению клетками мезенхимного фенотипа. При этом увеличиваются миграционная способность клеток, их инвазивность и продукция внеклеточного матрикса, а также усиливается их резистентность к апоптозу (Kalluri, Neilson 2003). ЭМП сопровождается усилением экспрессии генов, ответственных за мезенхимный фенотип, — виментина, гладкомышечного актина, фибронектина, а также Snail (другое название SNAIL). Snail — это транскрипционный фактор, репрессирующий экспрессию E-кадгерина и индуцирующий ЭМП (Nieto, 2002).

Весомые основания имеет нейральная гипотеза патогенеза витилиго. Так, неоднократно отмечалось, что началу заболевания часто предшествует психический стресс, который через нейротрансмиттерные и гормональные влияния способствует аутоиммунным и воспалительным расстройствам кожи (Yu et al., 2012). Микроскопические и ультраструктурные исследования показали наличие контактов нервных волокон с меланоцитами, а также дегенеративные и регенеративные изменения нервных волокон в коже больных витилиго (Breathnach et al., 1966; Morohashi et al., 1977). На этом основании можно было бы предположить существование количественных различий в иннервации депигментированной и перимакулярной кожи больных.

В настоящей работе с помощью метода иммуногистохимической окраски исследованы распределение клеток меланоцитарного ряда и экспрессия маркерных белков ЭМП (Snail, виментин) в зонах МД и перимакулярных зонах эпидермиса больных прогрессирующей и стабильной формами витилиго. Кроме того, количественным методом показано отсутствие различий по плотности нервных волокон, иммуногистохимически окрашенных на GAP43, эпидермиса между МД и перимакулярными зонами кожи больных витилиго.

Материал и методика

Исследовали материал биопсий от больных витилиго (11 образцов) и операционный материал от больных с недерматологическими патологиями (в качестве контроля, 5 образцов), полученный из Клиники кожных и венерических болезней 1-го Московского государственного медицинского университета (МГМУ) им. И. М. Сеченова. На работу было получено одобрение локального комитета по этике (№ 03-13 от 06.03.2013 г.) МГМУ, в рамках которого были утверждены план исследования и информированное согласие пациентов.

Материал биоптата, предназначенный для иммуногистохимического исследования, помещали в 4%-ный раствор формальдегида на 0.1 М фосфатном буфере (рН 7.2—7.4) и в течение 3 ч доставляли в лабораторию в термосе с тающим льдом. После инкубации в 30%-ном растворе сахарозы на фосфатном буфере (3 ч при 4 °С) образцы замораживали при –20 °С и изготавливали срезы толщиной 10 мкм с помощью криостата Leica CM1510S (Германия). Срезы монтировали на предметном стекле, высушивали и фиксировали холодным ацетоном при –20 °С. Далее срезы хранили при –20 °С до процедуры окраски.

Использованные в работе антитела перечислены в таблице и ниже. Перед окраской срезы окружали гидрофобной полоской с помощью блока Super Pap Pen (Dai-

do Sanyo, Япония). Срезы покрывали раствором антители в соответствующем разведении (см. таблицу) и инкубировали 24 ч во влажной камере при 4 °С. После промывки в физиологическом растворе (PBS, рН 7.3) срезы заливали раствором антители осла против иммуноглобулина мыши или кролика, конъюгированных с флуоресцентными красителями Cy2 или Texas red. Все срезы подкрашивали ядерным красителем бисбензимином (Sigma, США). Срезы исследовали с помощью микроскопа Olympus CX-41 с флуоресцентной насадкой и цифровой фотокамерой. Для оценки иннервации эпидермиса перимакулярных зон и МД считали индивидуальные волокна, пересекающие дермальную-эпидермальную границу на срезах толщиной 10 мкм (Lauria et al., 2005). Полученное число делили на длину поверхности эпидермиса на срезе. Для сравнения плотности клеток, позитивных по маркеру меланоцитарной дифференцировки клеток TRP1 и SOX10, на срезах считали клетки на протяжении 2 мм поверхности эпителия для каждого анализируемого участка кожи. Полученное число также делили на длину поверхности исследованного участка эпидермиса на срезе. На срезах, окрашенных на TRP1, и виментин, считали клетки с двойной меткой на 50 клеток, окрашенных на TRP1, и на 50 клеток, окрашенных на виментин, для каждого анализируемого участка кожи. Статистический анализ проводили с помощью непараметрических методов из пакета GraphPad/Prism-4.02.

Использованные реактивы: бисбензимином (Sigma, США); поликлональные антитела кролика против белка, связанного с тирозиназой (TRP1) (Abcam, ab49684; Великобритания), против фактора транскрипции Snail (Abcam, ab17732), против ламинина (Sigma, L 9393; США), против белка, ассоциированного с ростом GAP43 (Abcam, ab7462), против фактора транскрипции SOX10 (Abcam, ab25978); моноклональные антитела мыши против виментина (Sigma, V 2258; США); поликлональные антитела осла против иммуноглобулина мыши, а также против иммуноглобулина кролика, конъюгированные с флуоресцентными красителями Texas red или Cy2 (Jackson immunoresearch, США).

Результаты

Клетки, окрашенные с помощью антители против TRP1, были найдены как в эпидермисе нормальной (пигментированной) кожи здоровых и больных, так и в МД (рис. 1). В МД плотность расположения TRP1-позитивных клеток на срезе была несколько ниже (47.4 ± 10.4 на 1 мм), чем в перимакулярных зонах (50.1 ± 15.4 на 1 мм) и участках контрольной пигментированной кожи больных с недерматологическими патологиями (56.1 ± 14.3 на 1 мм). Однако различия между этими значениями были недостоверны ($P = 0.093$). В пигментированных участках кожи в случае сильной окраски окрашены были не только тела, но и отростки TRP1-позитивных клеток. В МД тела клеток на TRP1 были окрашены не полностью или неравномерно. Отростки были окрашены очень редко. Почти все (94 ± 4.6 %) TRP1-позитивные клетки в МД локализовались у базальной мембраны, в то время как в перимакулярных областях многие из них (24 ± 8.6 %) лежали в более поверхностных слоях эпидермиса (рис. 1, а). В одном случае в дерме нормально пигментированной перимакулярной зоны на глубине примерно 0.1—0.3 мм внутрь от базальной мембраны

Использованные в работе антитела

| Антиген | Животное-хозяин | Разбавление |
|----------|-----------------|-------------|
| TRP1 | Кролик | 1 : 100 |
| Виментин | Мышь | 1 : 100 |
| Snail | Кролик | 1 : 200 |
| Ламинин | » | 1 : 200 |
| GAP43 | » | 1 : 200 |
| SOX10 | » | 1 : 100 |

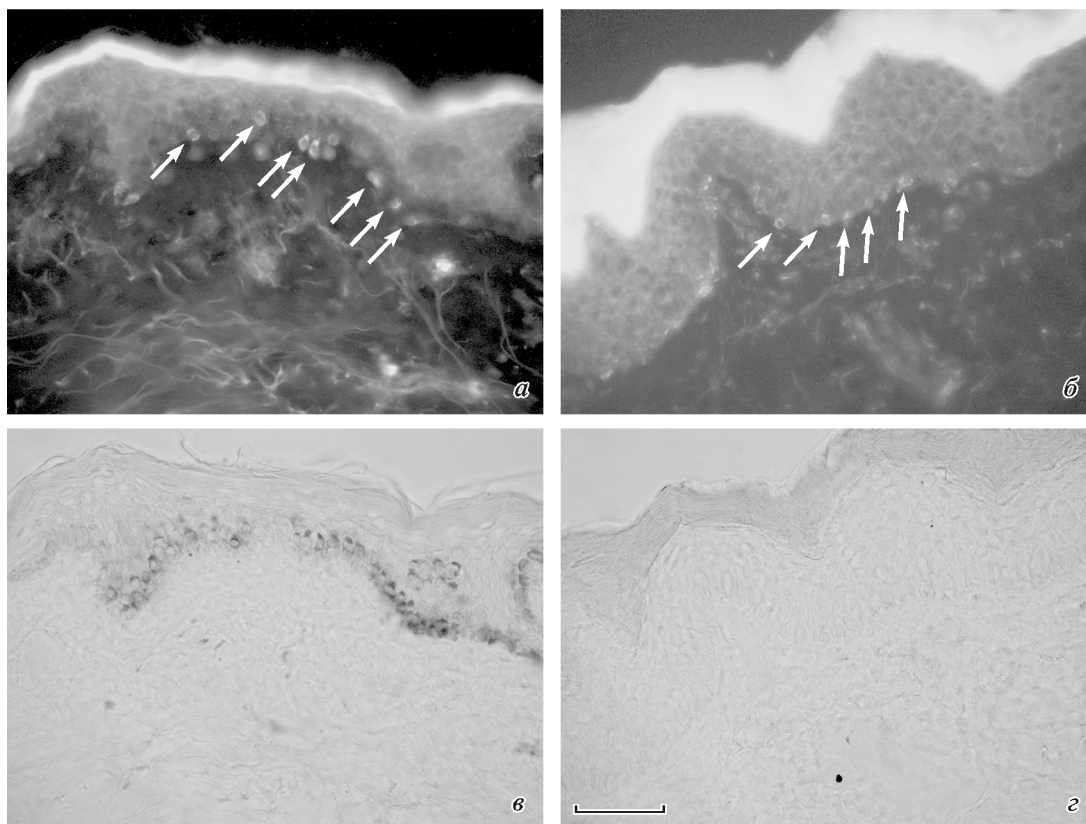


Рис. 1. Расположение TRP1-иммунопозитивных клеток в перимакулярной зоне и в МД больного витилиго. *a, б* — микрофотографии в свете флуоресценции иммуногистохимической окраски на TRP1 (стрелки) соответственно в перимакулярной зоне и в МД; *в, з* — то же, что и соответственно *a, б*, но в проходящем свете, показаны нормальная пигментация перимакулярной зоны (*в*) и отсутствие пигментации в МД (*з*). Масштабный отрезок — 50 мкм.

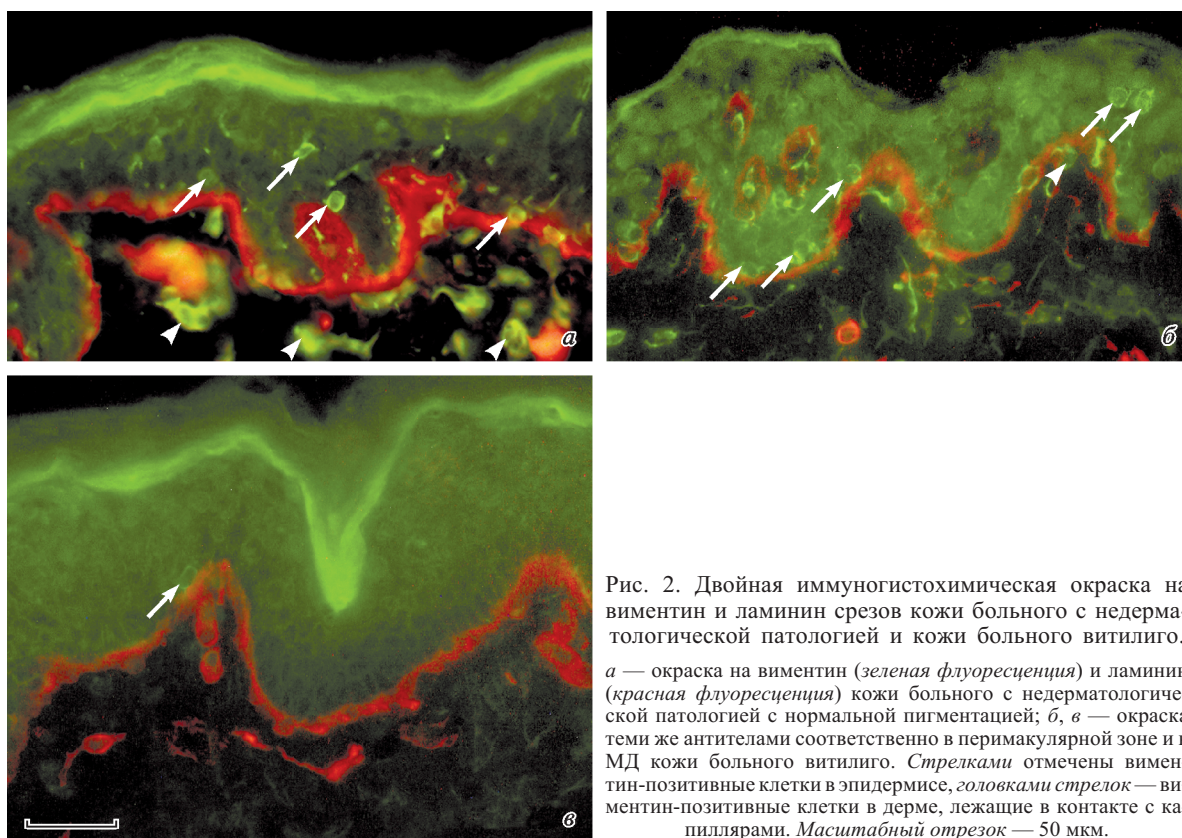


Рис. 2. Двойная иммуногистохимическая окраска на виментин и ламинин срезов кожи больного с недерматологической патологией и кожи больного витилиго. *a* — окраска на виментин (зеленая флуоресценция) и ламинин (красная флуоресценция) кожи больного с недерматологической патологией с нормальной пигментацией; *б, в* — окраска теми же антителами соответственно в перимакулярной зоне и в МД кожи больного витилиго. Стрелками отмечены виментин-позитивные клетки в эпидермисе, головками стрелок — виментин-позитивные клетки в дерме, лежащие в контакте с капиллярами. Масштабный отрезок — 50 мкм.

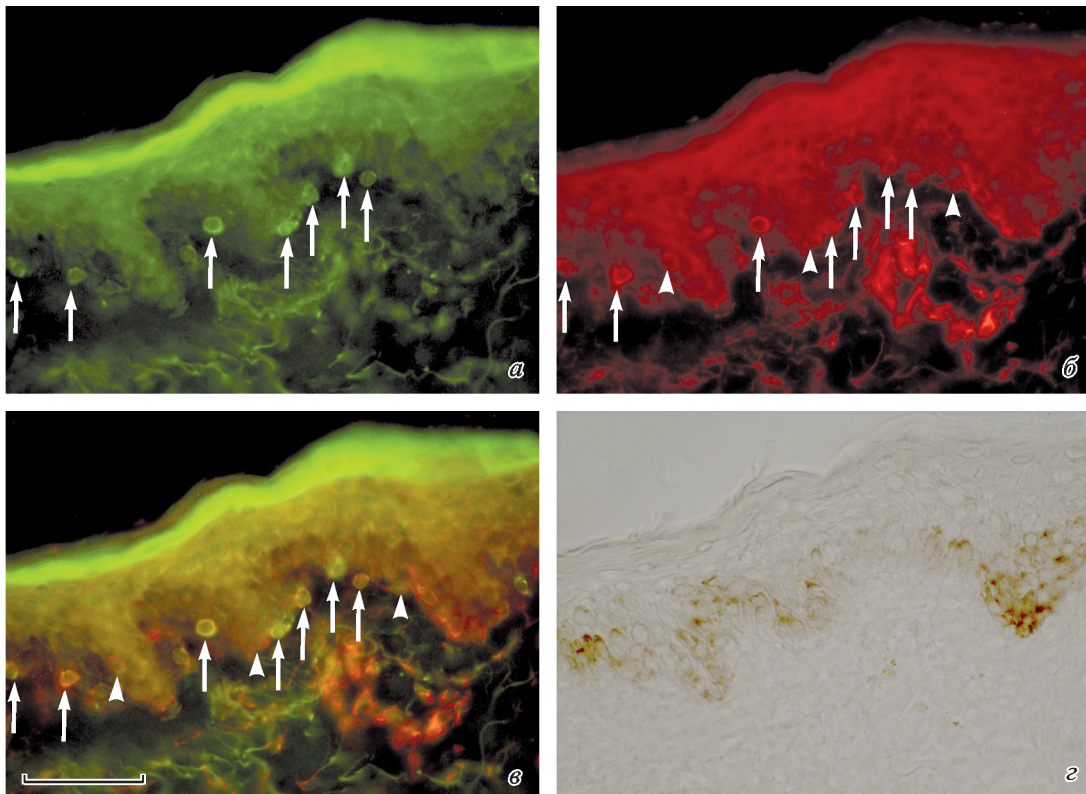


Рис. 3. Двойная иммуногистохимическая окраска на TRP1 (а) и виментин (б) в перимакулярной зоне кожи больного витилиго. в — совмещение каналов флуоресценции; г — то же в проходящем свете. Участок эпидермиса нормально пигментирован. Стрелками отмечены клетки, окрашенные на виментин и TRP1 в эпидермисе, головками стрелок — клетки, окрашенные только на виментин. Масштабный отрезок — 50 мкм.

встречались одиночные ярко окрашенные TRP1-позитивные клетки. В дерме МД эти клетки отсутствовали.

Виментин-позитивные клетки на срезах кожи локализовались как в эпидермисе, так и в дерме перимакулярной зоны больных витилиго, и в коже всех контрольных образцов (рис. 2, а, б). Окрашенные на виментин клетки чрезвычайно редко встречались в эпидермисе и дерме МД кожи больных витилиго (рис. 2, в). Часть виментин-позитивных клеток, лежащих в дерме пигментированных областей, локализовалась вблизи от капилляров (рис. 2, а, б).

Двойная окраска антителами против виментина и TRP1 показала в перимакулярной зоне наличие клеток, содержащих как виментин, так и TRP1 (рис. 3). Клетки, содержащие оба маркера, составляли $92 \pm 3.8\%$ от всех TRP1-позитивных и $65 \pm 10.5\%$ от всех виментин-позитивных клеток перимакулярных зон. Таким образом, большинство TRP1-позитивных клеток перимакулярных зон было и виментин-позитивно. В МД клеток, содержащих оба маркера, найдено не было.

Продукт гена *SOX10* является транскрипционным фактором, который активен в клетках эмбрионального нервного гребня и их производных. Этот белок управляет активностью других генов (например, *Mitf*), которые в свою очередь управляют дифференцировкой клеток, происходящих из нервного гребня. Иммуногистохимическая

окраска кожи на *SOX10* выявляет как клетки эпидермиса, так и клетки дермы (рис. 4). Плотность расположения *SOX10*-позитивных клеток в перимакулярных зонах и МД больных витилиго и в контрольной коже не отличалась от плотности TRP1-позитивных клеток: в МД она составляла 49.6 ± 11.2 на 1 мм, в перимакулярных зонах — 54.3 ± 12.2 , а в участках контрольной пигментированной кожи больных с недерматологическими патологиями — 52.1 ± 14.1 на 1 мм. Различия между этими значениями были недостоверны. В перимакулярных зонах *SOX10*-позитивные клетки располагались как в контакте с базальной мембраной, так и на расстоянии от нее (рис. 4, а), а в МД — только в контакте с базальной мембраной (рис. 4, б).

Транскрипционный фактор Snail является репрессором адгезионного белка E-кадгерина, который в свою очередь необходим для формирования стабильных адгезивных контактов с окружающими клетками и базальной мембраной. Snail-иммунопозитивные клетки были найдены в эпидермисе кожи больных витилиго. В контрольных образцах кожи больных с недерматологическими патологиями клеток, содержащих этот белок, обнаружено не было. Особенно многочисленны Snail-позитивные клетки были в области границы между пигментированной и непигментированной кожей (рис. 5). Этот результат требует подтверждения с помощью иммуноблоттинга.

Рис. 5. Расположение Snail-иммунопозитивных клеток в пограничном участке кожи больного витилиго.

а — флуоресценция иммуногистохимической окраски на Snail; б — то же в проходящем свете; стрелка показывает границу между пигментированной перимакулярной (справа) и депигментированной (слева) зонами. Масштабный отрезок — 100 мкм.

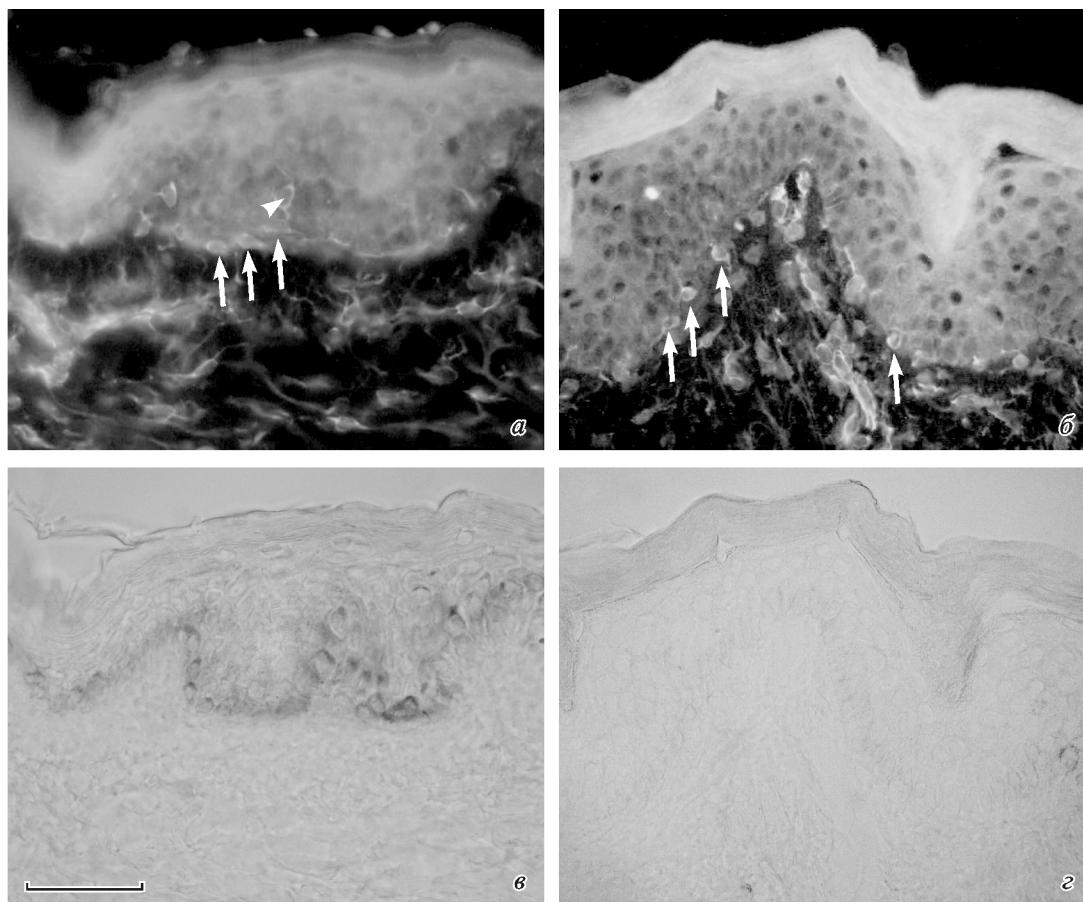
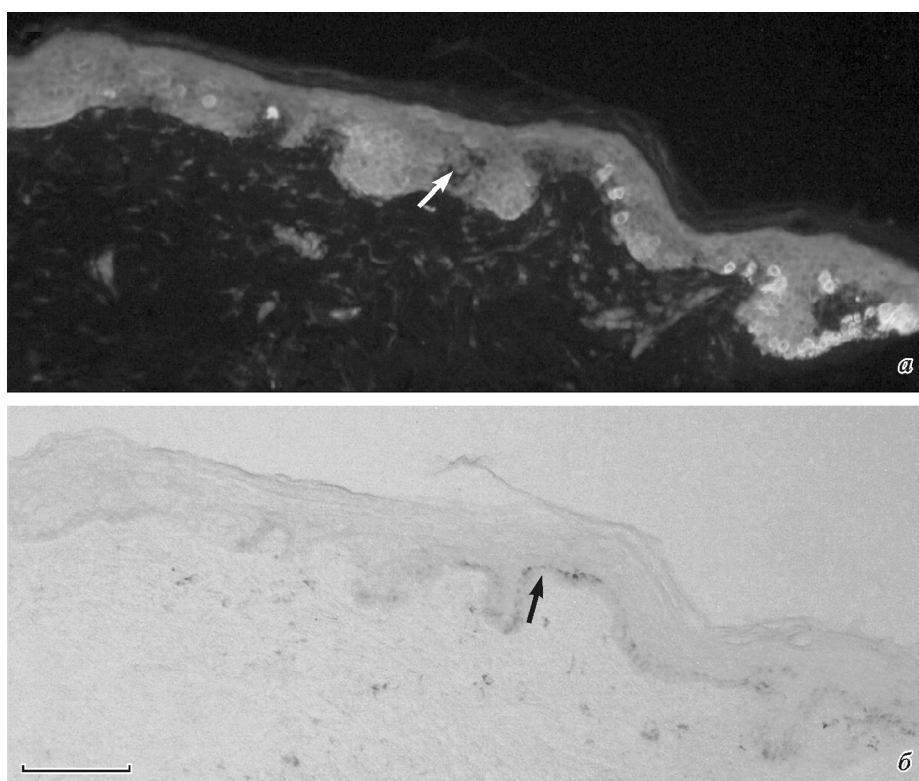


Рис. 4. Расположение SOX10-иммунопозитивных клеток в перимакулярной зоне и в МД кожи больного витилиго. *a, б* — микрофотографии в свете флуоресценции окраски на SOX10; *в, г* — то же в проходящем свете, показаны нормальная пигментация перимакулярной зоны (*в*) и отсутствие пигментации в МД (*г*). Стрелки показывают клетки, окрашенные на SOX10 и лежащие у базальной мембраны, головка стрелки (*a*) — SOX10-позитивную клетку, лежащую на расстоянии от базальной мембраны. Масштабный отрезок — 50 мкм.



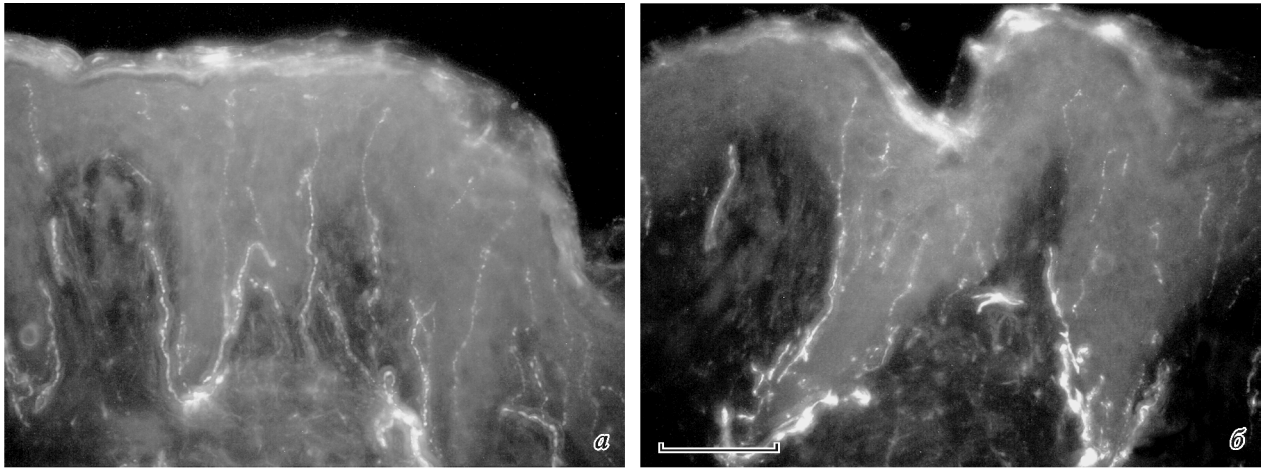


Рис. 6. Иннервация кожи перимакулярной зоны (а) и МД (б).

Иммуногистохимическая окраска эпидермиса кожи больного витилиго антителами против GAP43. Масштабный отрезок — 50 мкм.

GAP43 (growth associated protein) является надежным маркером периферических нервных волокон в различных органах. На срезах, окрашенных на GAP43, видны как более толстые волокна и пучки волокон в дерме, так и единичные тонкие волокна с бусиновидными утолщениями в эпидермисе (рис. 6). Волокна ветвятся, причем в различных направлениях, и прослеживаются вплоть до ороговевшего слоя эпидермиса. Достоверных различий в распределении нервных волокон в эпидермисе между пигментированными перимакулярными зонами (51.3 ± 19.2 на 1 мм; $n = 5$) и непигментированными МД (47 ± 17.8 на 1 мм; $n = 5$) у больных витилиго не обнаружено ($P = 0.09$).

Обсуждение

Результаты нашего исследования экспрессии белков TRP1 и SOX10 в МД и перимакулярных зонах эпидермиса у больных витилиго подтверждают результаты предшествующих работ о локализации меланоцитов в зонах депигментации (Tobin et al., 2000; Panuncio, Vignale, 2003; Seleit et al., 2014). TRP1- и SOX10-позитивные клетки найдены в полностью депигментированных зонах эпидермиса кожи, исследованных на эти маркеры, больных витилиго. Это может означать, что во многих случаях меланоциты, не синтезирующие меланина, или прекурсоры меланоцитов могут присутствовать в МД. В перимакулярных зонах TRP1-позитивные клетки располагались как в контакте с базальной мембраной, так и в толще эпидермиса на расстоянии от нее. Локализация прекурсоров, найденных в МД, свидетельствует о плотной связи этих клеток с базальной мембраной. Причина этого может быть в том, что адгезивные свойства меланоцитов или их прекурсоров в МД существенно отличаются от таковых в перимакулярных зонах. Вследствие этого могут существовать различия во взаимоотношениях этих клеток с окружающими их кератиноцитами. Известно, что в пигментированном эпидермисе больных витилиго адгезия меланоцитов и кератиноцитов ослаблена, что приводит к откреплению меланоцитов от базальной мембраны и их миграции в толщу эпидермиса с последующим отмиранием (слущиванием) (Gauthier et al., 2003).

Наши результаты показывают, что в перимакулярных зонах идет интенсивный процесс, сходный с ЭМП, о чем

свидетельствует экспрессия маркера мезенхимных клеток виментина, а также транскрипционного фактора Snail, репрессирующего экспрессию E-кадгерина. При этом виментин-позитивные клетки локализируются как на расстоянии, так и в контакте с базальной мембраной. В отличие от них Snail-позитивные клетки в перимакулярных зонах располагаются у базальной мембраны. Можно предположить, что Snail в перимакулярной зоне запускает процесс интраэпидермальной миграции базальных клеток, которые затем начинают экспрессировать виментин. К сожалению, нам не удалось получить двойное мечение Snail и маркера меланоцитов. Однако известно, что примерно 50 % виментин-позитивных клеток перимакулярных зон составляют Bcl2-позитивные меланоциты (Plettenberg et al., 1995). Двойное окрашивание на виментин и Trp1 также свидетельствует в пользу того, что часть виментин-позитивных клеток в перимакулярной зоне является меланоцитами. Можно предположить, что по крайней мере часть Snail-позитивных клеток перимакулярной зоны является меланоцитами.

Меланоциты, являющиеся производными нервного гребня, не являются эпителиальными клетками, поэтому термин ЭМП формально не может быть применен к ним. Тем не менее описанные выше изменения фенотипа очень похожи на ЭМП. Сходные процессы наблюдаются и интенсивно исследуются в опухолях, где связанные с ЭМП явления имеют решающее значение для их роста и метастазирования (Thiery, 2002). Такие изменения происходят и с клетками, не являющимися эпителиальными, например с клетками меланомы (Xiao et al., 2016). В таких случаях принято использовать термин «ЭМП-подобный процесс». В нашем случае можно предположить, что меланоциты перимакулярной зоны, экспрессирующие виментин и Snail, инициируют ЭМП-подобный процесс. В пределах МД виментин- и Snail-позитивные клетки очень редки, поэтому присутствующие там неактивные меланоциты или их прогениторы не участвуют или очень редко участвуют в ЭМП-подобном процессе.

Дальнейшие исследования могут пролить свет на роль, которую играет интенсивный ЭМП-подобный процесс в перимакулярной зоне витилиго в сохранении состояния депигментации МД. Остается также невыясненной причина отсутствия активации (полной дифференцировки)

прекурсоров меланоцитов в МД. Решению этого вопроса может помочь исследование культур меланоцитов и кератиноцитов, полученных из здоровых и депигментированных участков кожи больных витилиго.

Наши результаты не выявили различий в иннервации между МД и перимакулярной зоной эпидермиса больных витилиго. Это подтверждает данные предыдущих исследований иннервации депигментированной кожи больных витилиго с помощью антител против другого маркера периферических нервных волокон — PGP9.5 (Al'Abadie et al., 1994).

Таким образом, наше исследование подтверждает, что в зонах депигментации кожи больных витилиго присутствуют прогениторы меланоцитов, не синтезирующие меланина. Многие клетки пигментированных перимакулярных областей кожи участвуют в процессе, сходном с ЭМП, и, по-видимому, меняют свои адгезивные свойства. Эти изменения могут быть причиной расширения МД при активном витилиго.

Для подтверждения полученных результатов необходимо проведение молекулярных исследований экспрессии гена *SNAIL*, кодирующего белок Snail и других факторов транскрипции, участвующих в организации ЭМП в перимакулярных зонах, а также адгезивных молекул, экспрессирующихся в МД и перимакулярных зонах. Отдельного рассмотрения заслуживает вопрос о том, почему прогениторы меланоцитов не дифференцируются в зрелые меланоциты и не начинают синтезировать меланин. Решению этого вопроса могут способствовать исследования культур клеток, полученных из МД и перимакулярных зон кожи больных витилиго.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы «Молекулярная и клеточная биология».

Список литературы

Кошевенко Ю. Н. 2002. Витилиго. М.: Косметика и медицина. 644 с. (Koshevenko Yu. N. 2002. Vitiligo. Moscow: Kosmetika i medicina. 644 p.)

Ломоносов К. М. 2010. Иммунопатогенез и терапия витилиго иммунокорректором неовиром. Рос. журн. кожных и венерических болезней. 2 : 36—39. (Lomonosov K. M. 2010. Immunopathogenesis and therapy of vitiligo by means of immunomodulator neovir Russian J. Skin Venereal Diseases (Russian). 2 : 36—39.)

Al'Abadie M. S. K., Senior H. J., Bleehen S. S., Gawkrödger D. J. 1994. Neuropeptide and neuronal marker studies in vitiligo. Br. J. Dermatol. 131 : 160—165.

Hann S. K., Park Y. K., Lee K. G., Choi E. H., Im S. 1992. Epidermal changes in active vitiligo. J. Dermatol. 19 : 217—222.

Kalluri R., Neilson E. G. 2003. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. J. Clin. Invest. 112 : 1776—1784.

Lauria G., Cornblath D. R., Johansson O., McArthur J. C., Mellgren S. I., Nolano M., Rosenberg N., Sommer C. 2005. EFNS guidelines on the use of skin biopsy in the diagnosis of peripheral neuropathy. Eur. J. Neurol. 12 : 747—758.

Le Poole I. C., van den Wijngaard R. M., Westerhof W., Dutrieux R. P., Das P. K. 1993. Presence or absence of melanocytes in vitiligo lesions: an immunohistochemical investigation. J. Invest. Dermatol. 100 : 816—822.

Morohashi M., Hashimoto K., Goodman T. F., jr., Newton D. E., Rist T. 1977. Ultrastructural studies of vitiligo, Vogt-Koyanagi syndrome, and incontinentia pigmenti achromians. Arch. Dermatol. 113 : 755—766.

Nieto M. A. 2002. The snail superfamily of zinc-finger transcription factors. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 23 : 155—166.

Panuncio A. L., Vignale R. 2003. Ultrastructural studies in stable vitiligo. Amer. J. Dermatopathol. 25 : 16—20.

Plettenberg A., Ballaun C., Pammer J., Mildner M., Strunk D., Weninger W., Tschachler E. 1995. Human melanocytes and melanoma cells constitutively express the Bcl-2 proto-oncogene *in situ* and in cell culture. Amer. J. Pathol. 146 : 651—659.

Seleit I., Bakry O. A., Abdou A. G., Dawoud N. M. 2014. Immunohistochemical study of melanocyte-melanocyte stem cell lineage in vitiligo; a clue to interfollicular melanocyte stem cell reservoir. Ultrastruct. Pathol. 38 : 186—198.

Thiery J. P. 2002. Epithelial-mesenchymal transitions in tumor progression. Nat. Rev. Cancer. 2 : 442—454.

Tobin D. J., Swanson N. N., Pittelkow M. R., Peters E. M., Schallreuter K. U. 2000. Melanocytes are not absent in lesional skin of long duration vitiligo. J. Pathol. 191 : 407—416.

Wagner R. Y., Luciani F., Cario-André M., Rubod A., Petit V., Benzekri L., Ezzedine K., Lepreux S., Steingrimsson E., Taieb A., Gauthier Y., Larue L., Delmas V. 2015. Altered E-cadherin levels and distribution in melanocytes precede clinical manifestations of vitiligo. J. Invest. Dermatol. 135 : 1810—1819.

Xiao D., Barry S., Kmetz D., Egger M., Pan J., Rai S. N., Qu J., McMasters K. M., Hao H. 2016. Melanoma cell-derived exosomes promote epithelial-mesenchymal transition in primary melanocytes through paracrine/autocrine signaling in the tumor microenvironment. Cancer Lett. 376 : 318—327.

Yu R., Huang Y., Zhang X., Zhou Y. 2012. Potential role of neurogenic inflammatory factors in the pathogenesis of vitiligo. J. Cutan. Med. Surg. 16 : 230—244.

Поступила 21 VII 2016

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF DEPIGMENTED SKIN OF VITILIGO PATIENTS

A. V. Revishchin,¹ D. Yu. Pantelev,¹ L. G. Zakharova,¹
K. M. Lomonosov,² G. V. Pavlova^{1,*}

¹ Institute of Gene Biology RAS, Moscow, 119334,
and ² I. M. Sechenov 1st Moscow State Medical University, Moscow, 119991;
* e-mail: lkorochkin@mail.ru

Immunohistochemical analysis was used to study depigmented skin areas such as macular of depigmentation and skin perimacular areas in vitiligo patients. It has been shown that the cells containing melanocytic cell marker TRP1 are localized both in macular and perimacular areas. Within the macula of depigmentation all TRP1 positive cells are in close contact with the basement membrane. In perimacular areas many cells that have lost contact with the basement membrane, were localized deep in the epidermis. About 92 % of TRP1 positive

perimakular cells were also vimentin positive. Vimentin positive cells were numerous in perimakular areas but missing in the macula of depigmentation. Dense groups of cells immunopositive for transcription factor Snail, known as inductor of epithelial-mesenchymal transition, were localized in perimakular areas in close proximity to the macula depigmentation border. Such cells were extremely rare within the macula of depigmentation. There is reason to assume that an intensive process, which is similar to the epithelial-mesenchymal transition, might be the cause of melanocyte death in perimakular field, and thus prevents repigmentation of depigmented areas.

Key words: vitiligo, vimentin, TRP1, Snail, melanocytes, epithelial-mesenchymal transition.
