

УДК 616.5-002.525.2-078/-079

**ІМУНОМОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ШКІРИ ХВОРИХ
НА ШКІРНИЙ ЧЕРВОНИЙ ВОВЧАК**

І.Ю.Белік, Отейба Мукабел

Донецький національний медичний університет ім. М.Горького

Ключові слова: шкірний червоний вовчак, імуноморфологічні дослідження.

Шкірний червоний вовчак (ШЧВ) характеризується значними морфофункціональними порушеннями в епідермісі й дермі, які супроводжуються типовим для ШЧВ висипом та обмеженими, чи більш розповсюдженими явищами васкуліту. Морфологічне дослідження ураженої шкіри є одним із самих інформативних методів діагностики ШЧВ, однак, звичайний аналіз гістологічних зрізів дає орієнтовну інформацію, головним чином про гістологічний стан шкіри, але не дозволяє провести оцінку фізіологічних механізмів в шкірі, що відбуваються при ШЧВ [3, 7]. Імуноморфологічні дослідження шкіри дозволяють отримати уяву як розвивається запалення в дермі, тобто значно підвищують інформативність дослідження, сприяють прогнозуванню подальшого перебігу хвороби та допомагають підвищити ефективність лікування [1, 4].

Матеріал і методи дослідження. Проведено клінічне обстеження 57 хворих на ШЧВ, у яких було виявлено типові ознаки захворювання - еритематозні, дисковидні вогнища висипу з явищами фолікулярного гіперкератозу та рубцевої атрофії. У 22 хворих проведено морфологічне дослідження ураженої шкіри, 10 з них були обстежені також за допомогою імуноморфологічного дослідження. Біопсійний матеріал фіксували в цинковому фіксаторі ІНС Zinc Fixative (BD Pharmingen, США) і заливали в парафінові блоки за стандартною методикою. Серійні зрізи товщиною 5 мкм виконували на ротаційному мікротомі Microm HM325 (Німеччина). За допомогою моноклональних мишачих

антитіл (клон МТВ1, клон 1F6) виявляли склад запального інфільтрату; отримали візуалізацію первинних антитіл із застосуванням системи DAKO EnVision+; також проводили морфометричне дослідження з кількісною оцінкою, та внутрішньоклітинний стан кератиноцитів. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми Statistica 6.0 (StatSoft, США).

Результати дослідження. При гістологічному дослідженні у всіх хворих виявлялися ознаки, характерні для ШЧВ (рис. 1). В епідермісі відмічався осередковий гіперкератоз, що формувався як в устях фолікулів (фолікулярний гіперкератоз), так і в устях екринних залоз. У всіх випадках виявляли гідропічну дистрофію кератиноцитів як у базальному шарі, так і у вищележачих шарах (рис. 2). В шипуватому шарі епідермісу був відсутній характерний міжклітинний малюнок. Зернистий шар на більшому протязі був відсутній, лише іноді він виявлявся в місцях, де епідерміс утворював складки. Базальна мембрана, у нормі практично невидима, була добре вираженою та злегка звитою. При ШИК-реакції потовщена мембрана виявлялася найбільш чітко, при цьому виявлялася її переривчастість, особливо на ділянках, де спостерігалася виражена вакуольна дистрофія базальних кератиноцитів. У більшості волосяних фолікулів замість волосся виявляли скупчення рогових мас. У базальному шарі фолікулу також виявляли ознаки вакуольної дистрофії базальних клітин. В дермі спостерігалися вогнища мукоїдного набрякання у вигляді ділянок базофілії основної речовини, а також помірний навколосудинний набряк.

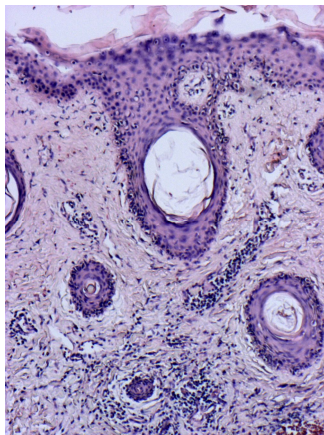


Рис.1. ШЧВ. Атрофія епідермісу зі згладженням дермо-епідермальної межі. Фолікулярний гіперкератоз, вакуольна дистрофія базальних кератиноцитів і волосяного фолікулу. Альтеративно-ексудативний васкуліт. Фарбування гематоксиліном та еозином, x150.

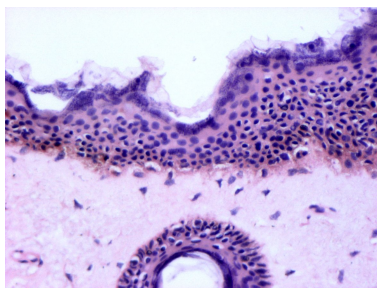


Рис.2 ШЧВ. Атрофія епідермісу зі згладженням дермо-епідермальної межі, вакуольна дистрофія базальних кератиноцитів і базальних клітин волосяного фолікулу. Різкий набряк дерми. Фарбування гематоксиліном і еозином, x150.

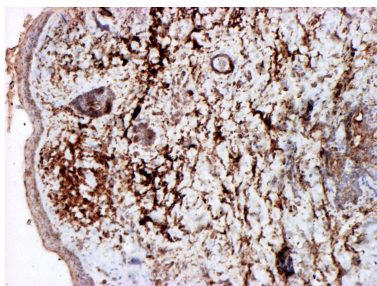


Рис. 3 ШЧВ. Виражене нагромадження імунних комплексів в дермі й навколо судин, помірне нагромадження в епідермісі та фолікулах. Імуногістохімічне фарбування з поліклональними антитілами до каппа легких ланцюгів імуноглобулінів, x60.

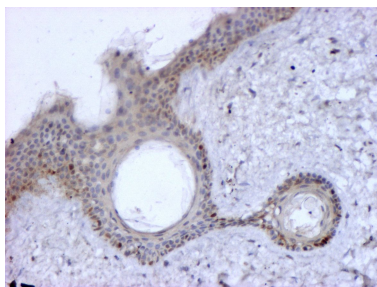


Рис.4 ШЧВ. Посилена проліферація клітин базального шару епідермісу й волосяних фолікулів. Імуногістохімічне фарбування з моноклональними антитілами до PCNA, x110.

Судини дерми були різко розширені без ознак облітерації просвіту й проліферації ендотелію. До складу перифолікулярних інфільтратів входили в основному місцеві дермальні макрофаги, позитивні на маркер CD1a, а до складу «сітчастих» структур - макрофаги гематогенного походження (CD68+, CD1a-). Виникнення поліморфних периваскулярних, перифолікулярних і дифузних інфільтратів з наявністю у складі запальних інфільтратів клітин гематогенного та дермального походження можна вірогідно пояснити полівалентною цитокиновою стимуляцією імуннокомпетентних клітин – клітин Лангергансу і CD34 клітин [2, 6]. Функціональна активність CD4-клітин є звичайним фізіологічним чинником і необхідним компонентом розвитку нормальної імунної відповіді при відсутності патології. При червоному вовчаку посилена проліферація та гіперактивність CD4-клітин у складі периваскулярних, перифолікулярних і дифузних інфільтратів дерми можливо є тригерним фактором автоімунного процесу, що може сприяти посиленню впливу Т-клітин на В-клітини [7].

Оскільки одним з головних патогенетичних механізмів розвитку запалення в шкірі при дискоїдному червоному вовчаку є нагромадження імунних комплексів, ми в першу чергу досліджували відкладення імунних комплексів за допомогою візуалізації легких ланцюгів імуноглобулінів з використанням поліклональних антитіл до каппа та лямбда легких ланцюгів імуноглобулінів [1, 3, 5, 6]. При даному дослідженні було встановлено, що в дермі має місце значне нагромадження імунних комплексів як у стінці судин, так і їхнє дифузне розташування в дермі (рис. 3). Ми спостерігали значну виразність відкладення імуноглобулінів у порівнянні з контрольними зрізами нормальної шкіри, де невеликі скупчення імуноглобулінів визначалися тільки в епідермісі та у волосяних фолікулах, що, за даними літератури, є відображенням нагромад-

ження секреторних імуноглобулінів - нормальних захисних антитіл класу А.

В дослідженнях Махневої Н.В. та Белецької Л.В. (2002) також було виявлено скупчення імунних комплексів в шкірі хворих на червоний вовчак, що роз'яснювалося як виділення (секвестрація) імунних комплексів із організму через дерму та епідерміс. На цьому шляху гранулярні й розчинні імунні комплекси (які просуваються до поверхні шкіри) проникають в цитоплазму клітин епідермісу і це, можливо, є тим самим чинним фактором, що сприяє посиленню диференціювання й проліферації кератиноцитів [5]. Тому особливу увагу ми приділили дослідженню функціонального стану клітин епідермісу — їх диференціальної та проліферативної активності.

При дослідженні проліферативної активності клітин епідермісу й волосяних фолікулів, у порівнянні з контрольними зрізами шкіри здорових людей, було виявлено різке збільшення клітин, які експресують ядерний антиген проліферуючих клітин (PCNA) (рис 4.). Підвищену проліферативну активність клітин епідермісу й волосяних фолікулів, як видно, можна пояснити фізіологічною елімінацією шкірою імунних комплексів при червоному вовчаку.

Висновки. Таким чином імуноморфологічне дослідження ураженої шкіри хворих на ШЧВ виявило різного ступеня виразності імунне запалення з формуванням помірних дифузних дермальних інфільтратів, а також помірних периваскулярних інфільтратів і щільних інфільтратів навколо волосяних фолікулів і сальних залоз. До складу дифузних інфільтратів в основному входили макрофаги гематогенного походження (CD68+, CD1a-), до складу інфільтратів навколо волосяних фолікулів і сальних залоз - Т-хелпери (CD4+) і дермальні макрофаги (CD68+, CD1a+), в складі периваскулярних інфільтратів переважали Т-хелпери (CD4+) і макрофаги гематогенного походження (CD68+, CD1a-). У хворих на ШЧВ були

виявлені значні порушення дозрівання і трансформації кератиноцитів як в кератиноцитах епідермісу так і в кератиноцитах волосяних фолікулів. Визначено гіперпроліферацію кератиноцитів базального шару епідермісу зі значним скупченням ядерного антигену

проліферуючих клітин. Можна припустити, що ці явища є природною захисною реакцією шкіри, зокрема епідермісу на дію й патологічний вплив імунних комплексів, які просуваються скрізь шкіру, і яких організм людини, хворої на ШЧВ намагається позбутися.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белік І.Ю. Патогенетичні основи та принципи ведення хворих на хронічний червоний вовчак з використанням метаболічної терапії /Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук. – Харків – 2007. – 38 с.
2. Макаренкова В.П., Кост Н.В., Щурин М.Р. Система дендритних кліток: роль в індукції імунитету і в патогенезі інфекційних, аутоімунних і онкологічних захворювань // Иммунология. – 2002. – № 2. – С. 68-75.
3. Никонова М.Ф., Григорьева Т.Ф., Лиепиньш Д.Я. и соавт. Подавление пролиферации и экспрессии внутриклеточных цитокинов в активированных Т-лимфоцитах человека под влиянием контактов с эпителиальными клетками различного органного происхождения // Иммунология. – 2001. – № 4. – С. 33-36.
4. Саидов М.З., Насонова В.А., Османов А.О. и соавт. Иммунофенотипирование клеток воспалительного инфильтрата при ревматоидных синовитах // Иммунология. – 2002. – № 1. – С. 18-22.
5. Casciola-Rosen L.A., Anhalt G., Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes // J. Exp. Med. – 1994. – Vol. 179. – P. 1317-1330.
6. Farkas L., Beiske K., Lund-Johansen F. et al. Plasmacytoid dendritic cell (natural interferon- α/β -producing cells) accumulate in cutaneous lupus erythematosus lesions // Am. J. Pathol. – 2001. – Vol.159, N 1. – P. 237-243.
7. Lorenz H.M., Herrmann M., Kalden J.R. The pathogenesis of autoimmune diseases // Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl. – 2001. – Vol. 235. – P. 16-26.

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОЖИ У БОЛЬНЫХ КОЖНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

И.Е.Белик, Отейба Мукабел

Проведено иммуногистохимическое исследование кожи больных кожной красной волчанкой. Определены зоны накопления иммунных комплексов, закономерности распределения CD-лимфоцитов, макрофагов гематогенного и дермального происхождения в составе очаговых и диффузных воспалительных инфильтратов. Исследованы пролиферативная активность клеток дермальных инфильтратов и клеток эпидермиса, процессы созревания и трансформации кератиноцитов.

THE IMMUNOMORPHOLOGICAL INVESTIGATION OF CUTANEUS LUPUS ERYTHEMATOSUS SKIN

I.Y.Byelik, Oteiba Mukabel

Presented the results of immunomorphological investigations of cutaneous lupus erythematosus skin. The immune complex deposits, distribution of CD-lymphocytes, macrophages of hematogenic and dermic origin in structure of inflammatory infiltrates are determined. Processes of keratinocytes maturing and transformation, dermal and epidermal cell proliferated activity are investigated.