## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОЖИ У ПАЦИЕНТОВ С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

Герасимов А.В.<sup>1</sup>, Денисов А.А.<sup>1</sup>, Логвинов С.В.<sup>1</sup>, Климов В.В.<sup>1</sup>, Костюченко В.П.<sup>1</sup>

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия (634050, Томск, ул. Московский тракт, 2), e-mail: a\_gerasimov@sibmail.com

С помощью методов световой микроскопии проведен количественный морфометрический анализ распределения лимфоцитов, макрофагов, фибробластов и коллагеновых волокон межклеточного вещества рыхлой соединительной ткани сосочкового слоя и плотной неоформленной соединительной ткани сетчатого слоя дермы у пациентов с атопическим дерматитом в остром периоде развития заболевания и периоде ремиссии. В остром периоде в дерме на участках внешне не измененной кожи возрастала численная плотность фибробластов, лимфоцитов и макрофагов. Умеренный или слабо выраженный периваскулярный отек соединительной ткани осложнялся фиброзными изменениями. В периоде ремиссии в очаге лихенизации отмечались высокая численная плотность лимфоцитов и макрофагов, слабо выраженный отек и фиброзные изменения. Возрастало число стареющих форм фибробластов. Выявленные морфологические особенности ремоделирования кожи могут служить основанием для использования индивидуальных подходов к реабилитации болезни.

Ключевые слова: атопический дерматит, ремоделирование кожи, биопсия, микроскопическое исследование

# MORPHOLOGICAL MARKERS OF REMODELING OF THE SKIN IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

Gerasimov A.V.<sup>1</sup>, Denisov A.A.<sup>1</sup>, Logvinov S.V.<sup>1</sup>, Klimov V.V.<sup>1</sup>, Kostyuchenko V.P.<sup>1</sup>

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia (634050, Tomsk, street Moskowski tract, 2), e-mail: a\_gerasimov@sibmail.com

With the aid of the methods of light microscopy is carried out the quantitative morphometric analysis of the distribution of lymphocytes, macrophages, fibroblasts and collagen fibers of the extracellular matrix of loose connective tissue of the papillary dermis and irregular type of dense connective tissue of the reticular dermis of corium in patients with atopic dermatitis in the acute development period of disease and the period of remission. In the acute period in the dermis in the sections of the outwardly unchanged skin the numerical density of fibroblasts, lymphocytes and macrophages grew. Moderate or weakly expressed perivascular edema of connective tissue was complicated by fibrous changes. In the period of remission in the center of lichenification was noted the high numerical density of lymphocytes and macrophages, weakly expressed edema and fibrous changes. The number of growing old forms of fibroblasts grew. The revealed morphological special features of remodeling of the skin can serve as base for using the individual approaches to the rehabilitation of disease.

Keywords: atopic dermatitis, remodeling of the skin, biopsy, microscopic examination

Атопический дерматит является широко распространенным рецидивирующим заболеванием кожи, которое сопровождается зудом и другими клиническими проявлениями и трудно поддается лечению [1, 3]. В последние годы исследуются новые малоизученные звенья иммунопатогенеза болезни, которые касаются трансдермальной (эпикутанной) сенсибилизации и тканевого ремоделирования кожи при атопическом дерматите [2]. При этом минимальное аллергическое воспаление даже в периоде ремиссии поддерживается различными иммунорегуляторными популяциями Т-лимфоцитов, другими клетками кожи и их цитокинами [2, 9, 10]. Ремоделирование кожи — это стойкая, но обратимая морфофункциональная перестройка ее тканей на фоне длительного аллергического воспаления с вовлечением иммунной системы, клинически проявляющаяся лихенизацией и

повышенной сухостью, лимфоцитарно-макрофагической инфильтрацией и фиброзными изменениями дермы [2, 3–8].

**Цель** работы – количественная оценка морфологических изменений дермы в острый период развития атопического дерматита и в период ремиссии.

### Материал и методы исследования

Обследованы 22 больных обоих полов в возрасте 18-45 лет в остром периоде и 10 в периоде ремиссии болезни, а также 10 здоровых добровольцев 17–24 лет (контроль). Диагноз атопического дерматита устанавливался на основании данных анамнеза, клинической картины, кожного аллерготестирования. Принимались во внимание критерии национальных и международных согласительных документов по данной патологии [1, 3]. При обследовании соблюдались принципы информированного согласия пациентов соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» и «Правилами клинической практики в РФ от 19.06.2003 г. № 266». В период обострения атопического дерматита биоптат кожи передней поверхности предплечья иссекался у больных из очага воспалительного процесса (1-я группа), а также с внешне не измененного участка кожи (2-я группа). В период ремиссии основного заболевания забор материала производился с очага лихенизации (3-я группа больных) и внешне не измененного участка кожи (4-я группа). Процедура иссечения биопсийного материала проводилась в асептических условиях с применением местной анестезии 2%-ным раствором новокаина. Материал фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обезвоживали в спиртах, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, гематоксилином и пикрофуксином по ван Гизону, толуидиновым синим по Хессу и Холландеру. В окулярной рамке с известной площадью в 10 случайных полях зрения при увеличении светового микроскопа в 2015 раз (объектив  $\times 90$ , окуляр  $\times 15$ , дополнительное увеличение  $\times 1,5$ ) в каждом срезе определяли число тучных клеток, фибробластов, макрофагов и лимфоцитов в пересчете на 1 мм<sup>2</sup>. Оценку выраженности фиброза проводили при увеличении микроскопа в 600 раз (объектив ×40, окуляр  $\times 10$ , дополнительное увеличение  $\times 1,5$ ), измеряли в баллах: 1 – нет фиброза; 2 – слабо выраженный фиброз вокруг отдельных сосудов; 3 – умеренно выраженный периваскулярный фиброз; 4 – сильно выраженные фиброзные изменения. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета программ «SPSS». Для представления количественных данных использовались описательные статистики: Ме (медиана), Q1 (1-й квартиль 25%) и Q3 (3-й квартиль 75%). Для всех имеющихся выборок данных применялись непараметрические критерии Краскал—Уолиса и Манна—Уитни. Различие двух сравниваемых величин считалось значимым с надежностью P>0,95, если вероятность их тождества оказывалась меньше 5%.

### Результаты исследования и их обсуждение

В остром периоде атопического дерматита в биоптатах больных в межклеточном веществе рыхлой соединительной ткани сосочкового слоя и плотной неоформленной соединительной ткани сетчатого слоя дермы наблюдаются явления отека, набухания, гомогенизации и дезагрегации части коллагеновых волокон, умеренно или слабо выраженные фиброзные изменения вблизи кровеносных сосудов. Возрастает число веретенообразных фибробластов с выростами эктоплазмы неправильной формы, ядрышками и мелкодисперсным хроматином в овоидном ядре, окруженном ободком базофильной эндоплазмы (рис. 1).

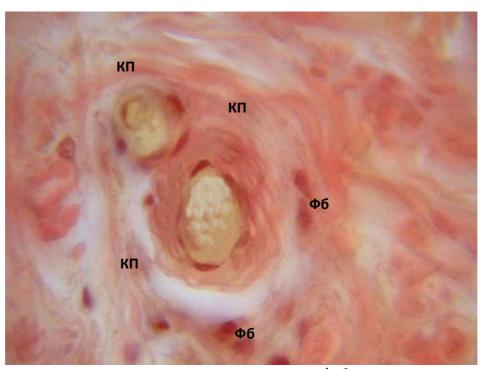


Рис. 1. Умеренно выраженный периваскулярный отек и фиброз в сетчатом слое дермы в очаге воспаления в остром периоде болезни: КП – коллагеновые пучки с явлениями гомогенизации, утолщения и дезагрегации фибрилл, Фб – фибробласты. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по ван Гизону. Ув. 450

Отмечается инфильтрация соединительной ткани лимфоцитами и макрофагами. В лимфоцитарных инфильтратах близи кровеносных сосудов обнаруживаются плазмоциты, моноциты, дегранулирующие тучные клетки (рис. 2).

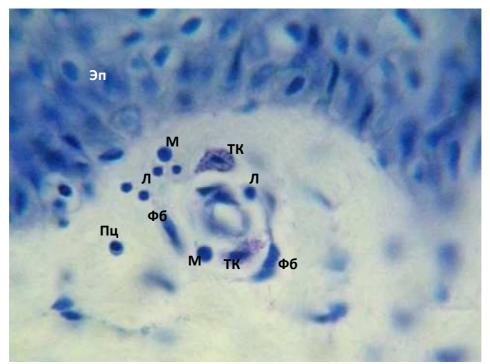


Рис. 2. Периваскулярный отек и клеточная инфильтрация в сосочковом слое дермы в участке внешне не измененной кожи в острый период атопического дерматита: II -лимфоциты, II -моноциты, II -плазмоцит, II -тучная клетка с метахроматическими гранулами в цитоплазме и дегранулирующая тучная клетка, II - фибробласты, II - эпидермис. Окраска толуидиновым синим по Хессу и Холландеру. Ув. 450

В период ремиссии заболевания отек межклеточного вещества соединительной ткани в дерме выражен незначительно, снижается частота проявления умеренно или слабо выраженных вокруг отдельных кровеносных сосудов фиброзных изменений.

Количественный анализ распределения клеток в сосочковом и сетчатом слоях дермы при атопическом дерматите в сравнении со здоровыми лицами свидетельствует, что в остром периоде численная плотность фибробластов в очаге воспаления превышает аналогичный показатель здоровых лиц в 1,4 раза, во внешне не измененных участках передней поверхности предплечья – в 1,6 раза. Количество лимфоцитов в остром периоде во внешне не измененных участках увеличивается в 1,6 раза, макрофагов – в 1,8 раза.

В периоде ремиссии атопического дерматита значимых изменений численной плотности фибробластов не наблюдается, но среди них возрастает доля стареющих клеток. Численная плотность лимфоцитов в очаге лихенизации превышает показатель здоровых лиц в 3,5 раза, во внешне не измененных участках – в 3,4 раза, макрофагов соответственно в 2,6 и 2,4 раза больше, чем в контроле (табл. 1).

Таблица 1 Численная плотность клеток в дерме передней поверхности предплечья у здоровых лиц и больных атопическим дерматитом (Me  $(Q_1-Q_3)$ )

Исследуемые группы	Фибробласты	Лимфоциты	Макрофаги	Тучные клетки
контроль, n=10	98	26	16	21

	(87,5–120)	(17,5–32,5)	(5–21)	(12–26)
1-я группа, n=5	142*	43	22	28
	(123–210)	(27-128)	(15–60)	(26–37)
2-я группа, n=10	152*	41*	29*	21
	(121–162)	(32,5-135)	(21–53)	(17–25)
3-я группа, n=5	110	91*	42*	24
	(85–140)	(70–270)	(35–70)	(19–27)
4-я группа, n=5	113	88*	39*	20
	(102–129)	(41,5–127)	(31–66)	(16–21)

Примечание. Здесь и далее \* – значимые различия с контролем (P<0,05).

Количественный анализ фиброзных изменений дермы при атопическом дерматите в сравнении со здоровыми лицами показывает, что в остром периоде в очаге воспаления они проявляются в 20% случаев, что значимо не отличается от контроля. Во внешне не измененных участках кожи фиброзные изменения дермы в 27,3% случаев выражены умеренно и у такого же числа больных выражены слабо. В период ремиссии заболевания в очаге лихенизации они с одинаковой частотой выражены умеренно или слабо, составляя в общей сложности 36,4% случаев. Во внешне не измененных участках в период ремиссии заболевания фиброзные изменения выражены слабо и проявляются в 13,6% случаев (табл. 2).

Таблица 2 Наличие фиброзных изменений в дермы у больных атопическим дерматитом в сравнении со здоровыми лицами (Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>))

Фиброзные	Исследуемые группы						
изменения	контроль,	1-я	2-я	3-я	4-я		
	n=10	группа,	группа	группа	группа		
		n=10	n=22	n=22	n=22		
Не выраже-	10	8	10	14	19		
ны, п							
Проявляются,	-	2	12 *	8*	3*		
n							

Результаты проведенного исследования инфильтрации соединительной ткани дермы и фиброзных изменений согласовываются с данными литературы [4, 5, 6, 7]. Ремоделирование представляет собой комплексный процесс, в котором принимают участие различные клетки. Тучные клетки, секретируя биогенные амины с запустеванием гранул в цитоплазме и выбрасывая их в составе метахроматических гранул в межклеточное вещество соединительной ткани, стимулируют расширение просвета кровеносных сосудов и повышение проницаемости их стенки, развитие локального отека, набухание, гомогенизацию и дезагрегацию коллагеновых фибрилл. Лимфоциты, выделяющие цитокины, обусловливают атопический характер процесса, стимулируют фибробласты, которые в остром периоде атопического дерматита включаются в процесс развития регенераторных проявлений, что приводит к формированию в дерме периваскулярных фиброзных изменений. Повышение в дерме содержания макрофагов является отражением стимуляции иммунного ответа на

аллергены при эпикутанной сенсиблизации. Лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация и фиброз, регистрируемые в период ремиссии, являются типичными морфологическими признаками ремоделирования кожи при атипическом дерматите.

#### Заключение

Таким образом, количественная оценка морфологических изменений сосочкового и сетчатого слоев дермы при атопическом дерматите в остром периоде развития болезни проявляется на участках внешне не измененной кожи увеличением численной плотности фибробластов, лимфоцитов и макрофагов, в очаге воспаления — умеренным или слабо выраженным периваскулярным отеком соединительной ткани и фиброзными изменениями. В периоде ремиссии в очаге лихенизации отмечается высокая численная плотность лимфоцитов и макрофагов, слабо выраженный отек и фиброз соединительной ткани дермы, возрастает содержание стареющих форм фибробластов. Выявленные морфологические особенности ремоделирования кожи могут служить основанием для использования индивидуальных подходов к реабилитации болезни.

## Список литературы

- 1. Атопический дерматит: рекомендации для практикующих врачей. Российский национальный согласительный документ по атопическому дерматиту / Под ред. Р.М. Хаитова, А.А. Кубоновой. М.: Фармарус-Принт, 2002. 192 с.
- 2. Денисов А.А., Климов В.В., Логвинов С.В. Морфологические и иммунологические факторы ремоделирования кожи у пациентов с атопическим дерматитом // Сибирский мед. журн. (Томск). -2011. Т. 26. № 2, вып. 1. С. 70–75.
- 3. Загрешенко Д.С. Цитокины «кожного окна» и параметры SCORAD / Д.С. Загрешенко, В.В. Климов, А.А. Денисов, Т.И. Саликова, Е.К. Фирсова // Сибирский мед. журн. (Томск). 2008. Т. 23. № 3, вып. 1. С. 95–96.
- 4. Логвинов С.В., Арий Е.Г., Байтингер В.Ф. Патологические кожные рубцы. Томск: Печатная мануфактура, 2004. 140 с.
- 5. Пронина Н.А. Иммуно-морфологические механизмы формирования и течения атопического дерматита: Автореф.дис. канд. мед. наук. Томск, 2003. 17 с.
- 6.Свиридова В.С. Роль иммунорегуляторных субпопуляций Т-клеток в патогенезе атопического дерматита: Автореф. дис. канд. мед. наук. Томск, 2003. 18 с.
- 7. Katayama I. Atopic dermatitis and remodeling of the skin // Japan J. Clinical Dermatol. -2002. N  $_{2}$  5. P. 39-42.

- 8. Leung D. Y., Donald Y. M. Atopic dermatitis an update for the next millennium // J. Allergy Clin. Immunol. 1999. Vol. 104. P. 99–108.
- 9. Nograles K.E. IL-22-producing «T22» T cells account for upregulated IL-22 in atopic dermatitis despite reduced IL-17-producing T(H)17 T cells / K.E. Nograles, L.C. Zaba, A. Shemer et al. // J. Allergy Clin. Immunol. 2009. V. 123. P. 1244–1252.
- 10. Wu K. IL-10-producing type 1 regulatory T cells and allergy / K. Wu, Y. Bi, K. Sun et al. // Cell. & Molec. Immunol. -2007. Vol. 4. P. 269–275.

#### Рецензенты:

Кологривова Е.Н., д.м.н., профессор кафедры иммунологии и аллергологии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск;

Потапов А.В., д.м.н., профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск.