

О.И. Жумыкина, О.А. Притуло, А.К. Загорулько, Т.Г.Филоненко

Иммунорфологическая оценка нарушений дифференцировки клеток в коже больных псориазом при лечении метатрексатом

Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского

Ключевые слова: морфология кожи • кожа • псориаз • лечение

Цель исследования - иммуногистохимическое изучение нарушений дифференцировки кератиноцитов в процессе лечения псориаза традиционной методикой и с введением метатрексата.

Материалом для исследования взяты биоптаты кожи у 30-ти больных псориазом, диагноз которых соответствовал L40.0 "псориаз обыкновенный", прогрессирующая стадия (индекс PASI=20 и более). Все больные псориазом, вошедшие в настоящее исследование, были разделены на 2 группы в соответствии с методами лечения.

При иммуногистохимическом исследовании биоптатов кожи наблюдали динамическое снижение экспрессии СК34βE12 в процессе лечения наиболее выраженного у больных с применением метатрексата. Антикератинизирующий эффект в основной группе больных проявляется подавлением пролиферации эпидермальных кератиноцитов, нормализацией дифференцирования ороговевающего эпителия, уменьшением сцепления роговых клеток. Последнее приводит к более быстрому их отшелушиванию и предотвращает образование роговых масс. Включение препарата метатрексат в схемы лечения псориаза позволяет добиться более быстрой регрессии псориатических элементов и уменьшить тяжесть обострений процесса.

Имуноморфологічна оцінка порушень диференціювання клітин у шкірі хворих на псориаз при лікуванні метатрексатом

О.І. Жумикіна, О.О. Притуло, О.К. Загорулько, Т.Г. Філоненко

Мета дослідження - імуногістохімічне вивчення порушень диференціювання кератиноцитів у процесі лікування псориазу традиційною методикою та введенням метатрексату. Матеріалом для дослідження взято біоптати шкіри у 30-ти хворих на псориаз, діагноз яких відповідав L40.0 "псоріаз звичайний", прогресуюча стадія (індекс PASI=20 і більше). Усіх хворих на псориаз, які ввійшли в це дослідження, було поділено на 2 групи відповідно до методів лікування. При імуногістохімічному дослідженні біоптатів шкіри спостерігалось динамічне зниження експресії СК34βE12 у процесі лікування найбільш виражених у хворих з використанням метатрексату. Антикератинізуючий ефект в основній групі хворих проявляється пригнібленням проліферації епідермальних кератиноцитів, нормалізацією диференціювання ороговілого епітелію, зменшенням щеплення ороговілих клітин. Це призводить до більш швидкої їх десквамації та запобігає утворенню ороговілих мас. Включення препарату метатрексат у схеми лікування псориазу дозволяє досягти більш швидкої регресії псориатичних елементів та зменшити тяжкість загострень процесу.

Ключові слова: морфологія шкіри • шкіра • псориаз • лікування

Патологія. – 2008. – Т. 5, №1. – С. 76-79

Immunomorphological estimation of impairments of the differentiation of cells in skin of patients with psoriasis treated by metotrexat

О.І. Жумыкина, О.А. Притуло, А.К. Загорулько, Т.Г. Филоненко

Aim of our investigation was immunohistochemical study of impairments of keratinocytes differentiation in process of psoriasis's treatment by using traditional methodic of administration of metatretaxat. Material for the investigation was biopsy of skin in 30 patients with progressive stage of psoriasis (index PASI=20 and more). All patients with psoriasis were divided into 2 groups according by treatment. In immunohistochemical investigation of the biopsies of the skin dynamic decreasing of the expression СК34βE12 in process of treatment by metatretaxat was found out. Antikeratinized effect in the basic group of patients occur by suppression of proliferation of keratinocytes, normalization of differentiation of keratinizing epithelium, decrease of adhesion of keratinocytes. It lead to quick desquamation and prevention of keratinizing mass. Using of metotretaxat in treatment of psoriasis lead to more quickly regression of psoriatic elements and decreasing of the severity of exacerbate of treatment's process.

Key words: ???? •

Pathologia. 2008;5(1):76-79

Введение

Проблема псориаза – одна из наиболее актуальных в дерматологии. Это связано со значительной распространенностью заболевания, хроническим, зачастую тяжелым течением, несовершенством имеющихся методов лечения, неясностью этиологии и

патогенеза. Пристальный интерес врачей к этой болезни объясняется не только ростом заболеваемости псориазом в последнее время, но и увеличением частоты тяжелых, генерализованных форм этого дерматоза, трудно поддающихся лечению, нередко приводящих к инвалидизации больных [1,3,4,15].

В основе патогенеза псориаза лежит генетически детерминированное нарушение главной функции кожи – кератинизации, обусловленное увеличением скорости пролиферации и значительным нарушением нормальной дифференцировки эпидермальных кератиноцитов [5,6,7]. В эпидермальных кератиноцитах увеличивается количество кератинов 6, 16, 18; появляется кератин 17, что свидетельствует о гиперпролиферации эпидермиса, увеличивается количество кератинов 1 (базального) и 2,5 (супербазальных). Отмечается также нарушение синтеза других белков – маркеров нормальной дифференцировки кератиноцитов (филлагрина, инволюкрина, калмодулина) [12,13,14]. Этот процесс сопровождается выраженным в разной степени проникновением нейтрофильных лейкоцитов в эпидермис и активированных Т-лимфоцитов в дерму [7,8,9,10].

В соответствии с этим все методы патогенетической терапии направлены на подавление пролиферации эпителиоцитов, нормализацию нарушений дифференцировки эпителиоцитов, устранение воспалительного процесса. Существует более 700 разнообразных методов лечения псориаза, появление нового метода лечения или медикамента не означает, что этот метод или медикамент лучше, чем применявшиеся ранее для терапии псориаза. Вместе с тем ряд применяемых методов лечения влияет сразу на несколько патогенетических звеньев. Выбор тактики лечения зависит от стадии процесса и особенностей его течения у каждого пациента. При выборе терапии обязательно учитывается распространенность, клиническая форма, поражение внутренних органов и наличие сопутствующей патологии, данные лабораторных и морфологических исследований. С целью подавления пролиферации эпителиоцитов, используются цитотоксичные препараты или ингибиторы клеточного деления, т.е. те же средства, которые назначаются при опухолях. Наиболее часто назначается метатрексат. Метатрексат применяется в терапии псориаза более 40 лет. Он является антагонистом фолиевой кислоты, представляя собой ее структурный аналог, осуществляет конкурентное ингибирование фолатредуктазы, переводящей фолиевую кислоту в тетрагидрофолиевую, участвующую в синтезе нуклеиновых кислот. Терапевтический эффект метатрексата в основном обусловлен токсическим действием на пролиферацию клеток лимфоидного ряда. Он также подавляет активность ИЛ-1 и продукцию ИЛ-6. (2,4,8,11). Но в литературе нет сведений о влиянии метатрексата на дифференцировку кератиноцитов.

Цель исследования – иммуногистохимическое изучение нарушений дифференцировки кератиноцитов в процессе лечения псориаза традиционной методикой и с применением метатрексата.

Материал и методы

Материалом для исследования взяты биоптаты кожи у 30-ти больных псориазом, диагноз которых соответствовал L40.0 "псориаз обыкновенный", прогрессирующая стадия (индекс PASI=20 и более). Все больные псориазом, вошедшие в настоящее исследование, были разделены на 2 группы в соответствии с методами лечения.

1. Контрольная группа пациентов, которым проводили традиционный метод лечения (n=15), включающий гипосенсибилизирующие средства, витамины, мазевое лечение, по показаниям – УФО.

2. Основная группа пациентов, которым применяли метатрексат по общепринятым схемам (n=15).

Все пациенты находились под постоянным динамическим наблюдением. Оценка темпов и качества обратного развития проводилась по следующим показателям: инфильтрация, эритема, шелушение.

Биопсии для гистологического и иммуногистохимического исследования брали по окончании лечения через 21 день из псориатических элементов на коже в стационарной, прогрессирующей и регрессирующей стадии заболевания. Объективность исследования и его стандартизацию обеспечивало использование индекса PASI.

Биоптаты кожи фиксировали 10% забуференным формалином, заливали в парафин и изготавливали срезы толщиной 5 мкм. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Для оценки процессов дифференцировки кератиноцитов в течение лечения использовали моноклональные антитела СК34βE12, представляющие коктейль антител к 1,5,10,14 фракциям цитокератинов. В исследованиях он используется для определения экспрессии в плоском эпителии на мембранах или субмембранно.

Иммуногистохимические реакции проводили в парафиновых срезах кожи лиц, страдающих псориазом, с использованием соответствующих первичных антител (DAKO CYTOMATION) и системы визуализации LSAB (Labelled Streptavidin-Biotin). Ядра докрасивали гематоксилином.

Результаты и их обсуждение

Анализ клинико-морфологического исследования показал, что к 21-у дню лечения вульгарного псориаза в контрольной группе больных процессы регрессии были замедлены по сравнению с основной группой больных.

Из 15 пациентов контрольной группы у 6-ти (40%) отмечались клинико-морфологические признаки прогрессирующей стадии и у 6-ти (40%) больных - стационарная стадия. Регресс отмечали у 3-х больных (20%). Тогда как в основной группе больных (с ис-

пользованием в терапии метатрексата) прогрессирующая стадия выявлена у 3-х больных (20%), стационарная – у 5-ти (33,3%), а в стадии регресса количество больных преобладало (7 больных – 46,7%).

При морфологическом исследовании отмечали следующие изменения в кератиноцитах при различных стадиях заболевания, отмеченных на 21-й день лечения.

Так, в биоптатах кожи больных с прогрессирующей стадией морфологические признаки практически не отличаются от выявленных перед лечением, как в основной, так и в контрольной группе. Очаги повреждений характеризуются выраженным акантозом, пара- и гиперкератозом, наличием полинуклеаров в роговом слое и под ним (абсцессы Мунро), незначительным скоплением полинуклеаров в верхних отделах шиповатого слоя эпидермиса с его спонгиозными превращениями (пустулы Когея), увеличением фигур кариокинеза в клетках базального слоя эпидермиса, полнокровием сосудов и большим количеством периваскулярных нейтрофильных и лимфоидно-макрофагальных инфильтратов в поверхностных отделах собственно дермы. Зернистый слой отсутствует.

При иммуногистохимическом исследовании в обеих группах наблюдали диффузную интенсивную экспрессию СК34βE12 как на мембранах, так и в цитоплазме кератиноцитов всех слоев эпидермиса, включая базальный (рис. 1, цв. вкладка 2).

Следует отметить, в стационарной стадии морфологические признаки варьировали в зависимости от применяемых методов лечения. В препаратах кожи больных основной группы стабилизация процесса более выражена. Отмечаются единичные очаги паракератоза, между которыми появляется слой зернистых клеток. Межклеточный отек менее выражен, чем в контрольной группе. Абсцессы Мунро и митозы базальных клеток отсутствуют. Отмечается менее выраженная экспрессия СК34βE12, при этом локализация МКА преобладает в роговом слое и зернистом (рис. 2, цв. вкладка 2) и носит очаговый характер.

В контрольной группе экспрессия СК34βE12 имеет более диффузный характер и локализуется во всех слоях эпидермиса (рис. 3, цв. вкладка 2).

Стадия регресса преобладала в основной группе не только по количеству больных, но и по значительной нормализации структурно-функционального состояния кожи. При гистологическом исследовании зернистый слой в большинстве случаев приобретает нормальный вид. Межклеточный отек отсутствует. Гиперкератоз практически отсутствует, очаговый паракератоз сохраняется. Акантотические выросты эпидермиса единичные и неглубокие. В биоптатах кожи

больных контрольной группы сохраняется не только очаговый паракератоз, но и отмечаются единичные очаги гиперкератоза. Акантотические выросты эпидермиса более глубокие с гипертрофией надсосочкового слоя. Пролиферация базальных клеток не определяется во всех группах больных. При иммуногистохимическом исследовании обращает внимание слабовыраженная экспрессия СК34βE12 на мембранах базальных клеток эпидермиса в основной группе и более выраженная диффузная экспрессия СК34βE12 в роговом слое биоптатов кожи больных контрольной группы (рис. 4,5, цв. вкладка 2).

Выводы

1. У пациентов основной группы переход в регрессивную стадию заболевания происходит не только быстрее, но и более качественно, что определяется количеством больных с регрессией псориатических элементов и значительным улучшением структуры кожи, в том числе и эпидермиса.

2. При иммуногистохимическом исследовании биоптатов кожи наблюдали динамическое снижение экспрессии СК34βE12 в процессе лечения в обеих группах, наиболее выраженное в основной.

3. Антикератинизирующий эффект в основной группе больных проявляется подавлением пролиферации эпидермальных кератиноцитов, нормализацией дифференцирования ороговевающего эпителия, уменьшением сцепления роговых клеток. Последнее приводит к более быстрому их отшелушиванию и предотвращает образование роговых масс.

4. По-видимому, метатрексат тормозит синтез и репарацию ДНК, клеточный митоз в пролиферирующих клетках эпидермиса, поддерживает нормальную скорость митоза в клетках эпидермиса, тем самым регулируя его толщину.

5. Включение препарата метатрексат в схемы лечения псориаза позволяет добиться более быстрой регрессии псориатических элементов и уменьшить тяжесть обострений процесса.

Литература

1. Кутасевич Я.Ф. Современный взгляд на проблему псориаза // Дерматология та венерология. - 2002. - №2. - С.3-11.
2. Олисова О.Ю. Современные подходы к ведению больных псориазом // Рус.мед.журн. - 2004. - 12(4)(204). - С.182-185.
3. Охлопков В.А. Оценка тяжести вульгарного псориаза / Клини. дерматол. и венерол. - 2004. - №2. - С.67-70.
4. Родионов А.Н. Кальципотриол - новое патогенетическое направление в терапии псориаза // Вестник дерматологии и венерологии - 1998. - №5. - С.14-22.
5. Рукуша Т.Г., Салмина А.Б. Апоптоз и пролиферация кератиноцитов у больных псориазом с различной дав-

- ностью заболевания // Клини. дерматол. и венерол. - 2003. - №2. - С.60-63.
6. *Перехрестенко А.П.* Иммунопатогенез псориазической болезни // Лікарська справа. - 2000. - №5. - С.10-14.
7. *Новиков А.И., Кононов А.В., Охлопков В.А., Правдина О.В., Братухина Г.Д., Городилов Р.В.* Иммунохимические исследования при псориазе // Вестник дерматол., венерологии. - 2003. - № 3. - С. 26-28.
8. *Федоров С.М.* Псориаз: клинические и терапевтические аспекты // Рус. мед. журн. - 2001. - Т.9, №11. - С.447-450.
9. *Катунина О.Р.* Иммуноморфологическая характеристика клеток воспалительного инфильтрата при псориазе // Вести дерматол. и венерол. 2005. - №2. - С.25-28.
10. *Шевченко Т.И., Шлопов Г.В.* Патологическая анатомия псориазической болезни. - К.: УкрІНТЕК, 2001. - 358с.
11. *Владимиров В.В.* Современные методы лечения псориаза // Дерматология, приложение к журналу "Consilium Medicum". - Москва, 2006. - С.23-26.
12. *Leigh I.M., Navsaria H., Purkis P.E. et al.* Keratin (K16 and K 17) as markers of keratinocyte hyperproliferation in psoriasis in vivo and in vitro // Br.J.Dermatology.-1993.- Vol.133.-P.501.
13. *McKay I.A., Leigh I.M.* Altered keratinocyte and differentiation in psoriasis // Clin.Dermatology-1995.- Vol.13.-P.105.
14. *Mommers J.M., van Ruissen F, van Erp PE et al.* Changes in keratin 6 and keratin 10 (co-)expression in lesional and symptomless skin of spreading psoriasis // Dermatology.- 2000.-Vol.201(1).-P.15-20.
15. *Baker B., Fry L.* The immunology of psoriasis// Br.J. Dermatology - 1992.-Vol.126.-P.1-9.

Поступила 27.02.2008 г.

Сведения об авторах:

- Приюто Ольга Александровна** – д.мед.н., профессор, заведующая кафедрой дерматовенерологии Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского;
- Жумькина Оксана Ивановна** – ассистент кафедры дерматовенерологии Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского;
- Загорюлько Александр Кимович** – д.мед.н., профессор, заведующий кафедрой патоморфологии Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского;
- Филоненко Татьяна Григорьевна** – к.мед.н., доцент кафедры патоморфологии Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского.

Адрес для переписки:

Филоненко Татьяна Григорьевна, ул. Евпаторийское шоссе д. 1/2, кв.12, г. Симферополь, АР Крым, 95000.
E-mail: tanyu_fil@mail.ru