
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Дмитренко С.В., Вернигородский С.В., 2015
УДК: 616.5-003.875:577.161.1

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ
ИХТИОЗА С ПРИМЕНЕНИЕМ РЕТИНОИДОВ**

С.В. ДМИТРЕНКО, С.В. ВЕРНИГОРОДСКИЙ

Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И. Пирогова,
г. Винница, Украина

**MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS
TREATMENT OF ICHTHYOSIS WITH THE USE OF RETINOIDS**

S.V. DMITRENKO, S.V. VERNYGORODSKYI

Vinnitsa national medical University named after N.I. Pirogov, Vinnitsa, Ukraine

В статье представлены данные о патоморфологических изменениях кожи при использовании ступенчатой схемы лечения ихтиоза с использованием ретиноидов. На основе анализа биопсийного материала больных с различными видами ихтиоза предложено выделение двух основных типов ихтиоза в зависимости от степени тяжести патогистологических изменений: легкую и тяжелую. Установлено, что развитие иммунного воспаления в коже больных ихтиозом происходит с привлечением клеток CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, количество которых достоверно повышалось. Нарушение процессов эпидермальной пролиферации и дифференцировки эпителиоцитов, а также дисрегуляция клеточных иммунных реакций в коже является одним из основных патогенетических механизмов развития патогистологических изменений эпидермиса у больных с ихтиозом. Использование патоморфологического метода дает возможность объективно оценить тяжесть течения ихтиоза и дифференцированно подойти к выбору наиболее эффективной схемы лечения.

Ключевые слова: ихтиоз, патоморфологические изменения кожи, локальный иммунный ответ, лечение, ретиноиды.

The article presents data on pathological changes of the skin using a step-care treatment of ichthyosis by retinoids. The pathological changes of the skin on the base of biopsy material analysis from patients with various types of ichthyosis were studied. The two basic types of ichthyosis, depending on the severity of histopathological changes were proposed: mild and marked. The development of immune inflammation in the skin of patients with ichthyosis occurs with the involvement of CD4 + cells and CD8 + T lymphocytes, the number of them significantly increases. The disturbance of epidermal proliferation and differentiation of epithelial cells, as well as dysregulation of cellular immune reactions in the skin is one of the major pathogenic mechanisms of pathological changes of the epidermis in patients with ichthyosis. Using pathomorphological method enables an objective assessment of the severity of ichthyosis and applies a differentiated approach to select the most effective treatment scheme.

Keywords: *ichthyosis, pathomorphological changes of the skin, local immune response, treatment, retinoids.*

Введение

Относительно высокая частота ихтиозиформных кератодермий в общей структуре дерматологической заболеваемости, их тяжелое течение, системный характер поражений, трудности в лечении и низкая эффективность последнего создают проблему своевременной и правильной диагностики этих заболеваний.

Морфологическая верификация патологического процесса, возникающего в коже при ихтиозе является одним из тех объективных методов, на которых базируется доказательная медицина [4].

В отечественной и зарубежной литературе имеются лишь единичные работы, посвященные изучению мор-

фологических изменений при кератодермиях, в частности при ихтиозе [2, 6, 9, 13, 14, 15].

К настоящему времени нет системного подхода к морфологической диагностики этой группы заболеваний, не решена роль пролиферативной активности клеток эпидермиса в развитии наследственных дерматозов, отсутствуют патогномоничные критерии, характерные именно для ихтиоза.

Пролиферация кератиноцитов и других клеток дермы, механизмы взаимодействия между клетками иммунной системы и пролиферативной активностью эпителиоцитов в настоящее время исследованы недостаточно.

Поэтому изучение, а особенно верификация специфических пато-

морфологических критериев, позволяющих определить состояние эпидермиса при той или иной форме ихтиоза на сегодняшний день является особенно актуальным.

Цель исследования

Установить патоморфологические особенности течения вульгарного ихтиоза, сухой и буллезной формы ихтиозиформной эритродермии при использовании ступенчатой схемы терапии с применением ретиноидов для аргументации принципов и контроля лечения.

Материалы и методы

На базе Винницкого областного патологоанатомического бюро, патологистологической лаборатории кафедры патологической анатомии ВНМУ изучено 12 биоптатов кожи больных на различные типы ихтиоза. Возраст обследованных больных колебался от 19 до 69 лет и составлял в среднем $32,6 \pm 3,87$ лет. Проводились общеклинические и патоморфологические исследования. Биоптаты кожи получали под местной анестезией, с пораженного участка кожи правого плеча. Препараты готовили по стандартной методике, гистологические срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, основным коричневым по Шубичу, комбинацией основного коричневого и крепкого зеленого красителя, ШИК-реакции с альциановый синим, толуи-

диновым синим для определения гликопротеинов, резорцин-фуксином по Вейгерту для выявления эластических волокон [1, 3, 7].

Пролиферативную активность клеток эпидермиса оценивали с помощью мышиных моноклональных антител к ядерному антигену Ki-67 ("DAKO", клон MIB-1, Дания), как наиболее чувствительного маркера пролиферации. В препаратах при 400-кратном увеличении микроскопа определяли индекс пролиферации (ядерная метка Ki-67) в 5 случайно выбранных полях зрения (≥ 500 клеток) как долю в процентах положительно окрашенных ядер эпителиоцитов. Изучение количества и распределения в структурах кожи основных субпопуляций Т-клеток – CD4+, (Т хелперы/индукторы), CD8+ (цитотоксические/супрессорные Т-лимфоциты) проводили стрептавидин-биотиновым методом ("DAKO", Дания, LSAB2 Systems, HRP). Для иммунофенотипирования использовали мышиные моноклональные антитела против CD4 (клон Clone 4B12), CD8 (клон C8/144B), производства фирмы "DAKO", (Дания).

Микроскопию и фотографирование гистологических препаратов проводили с помощью светового микроскопа OLIMPUS BX 41 при увеличениях в 40, 100, 200 и 400 раз. Получали и обрабатывали снимки, проводили морфометрию и статистическую обработку с помощью программы

«Quick PHOTO MICRO 2.3». Содержание клеточных элементов определяли в расчете на единицу условной площади (1 мм^2). При выполнении морфометрических исследований руководствовались основными принципами, изложенными в руководстве Г.Г. Автандилова (2002).

Результаты и их обсуждение

В группе больных с вульгарным ихтиозом (ВИ) роговой слой эпидермиса был представлен роговыми че-

шуйками, которые плотно прилегали друг к другу, что соответствовало компактному гиперкератозу. В то же время у отдельных пациентов его повышенная хрупкость приводила к тому, что в процессе обработки роговые массы частично крошились, сохраняясь только в своей нижней и средней части, в связи с чем не всегда можно было с достоверностью судить о его толщине, которая колебалась от 0,1 до 0,22 мм и в среднем составляла $0,175 \pm 0,011$ мм (табл. 1).

Таблица 1

Толщина рогового слоя и эпидермиса у больных с вульгарным ихтиозом и ихтиозиформной эритродермией (в миллиметрах)

Нозология	Роговой слой		Эпидермис		Р
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
Вульгарный ихтиоз	$0,175 \pm 0,011$	$0,101 \pm 0,01$	$0,046 \pm 0,004$	$0,057 \pm 0,003$	$<0,05$
Ихтиозиформная эритродермия небуллезная форма	$0,095 \pm 0,007$	$0,07 \pm 0,006$	$0,238 \pm 0,033$	$0,192 \pm 0,006$	$<0,05$, $<0,1$
Ихтиозиформная эритродермия буллезная форма	$0,272 \pm 0,017$	$0,206 \pm 0,017$	$0,317 \pm 0,018$	$0,278 \pm 0,015$	$<0,05$
Р	$<0,001$	$<0,01$	$<0,001$	$<0,001$	

В результате морфометрического исследования установлено, что толщина эпидермиса без рогового слоя у больных с ВИ составляла в среднем $0,046 \pm 0,004$ мм (табл. 1). Такое резкое истончение эпидермального слоя пораженной кожи является проявлением нарушенной регенерации зернистого слоя – постоянного компонента ВИ.

При окраске кислым раствором основного коричневого наблюдали слабую очаговую реакцию и практически полное отсутствие кератогиалиновых гранул, что свидетельствовало об их незрелости и подтверждало несостоятельность отдельных клеток зернистого слоя образовывать кератогиалин (рис. 1). Наряду с истончением эпидермиса, которое было обу-

словлено уменьшением количества рядов остистого и зернистого слоев, у

78% больных ВИ отмечали полное исчезновение зернистого слоя.

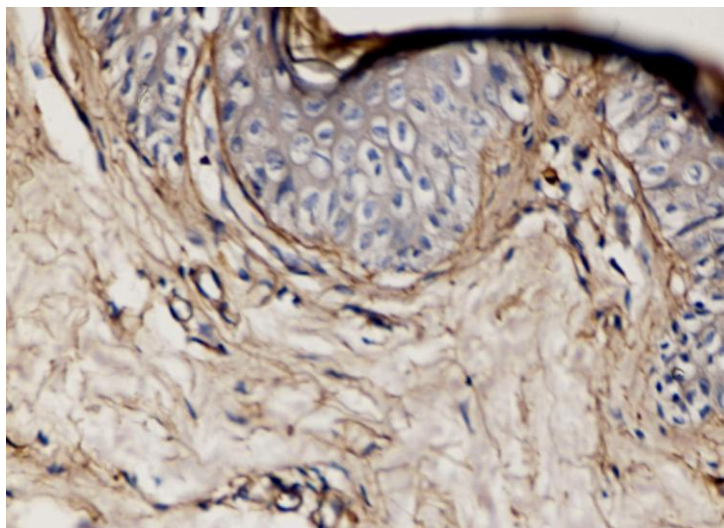


Рис. 1. Отсутствие зернистого слоя и кератогиалиновых гранул, вакуолизация эпителиоцитов остистого слоя у больного с ВИ. Основной коричневый x 200

Отмечено удлинение эпидермальных выростов, которые проникали местами на значительную глубину в собственно кожу, что сопровождалось соответствующим увеличением сосочков дермы иногда с формированием гребешков. Акантоз был достаточно равномерным (рис. 2) и преобладал у больных (93%) с небулезной ихтиозиформной эритродермией (НИЭ, сухой тип), однако у больных с ВИ акантоз имел очаговый характер и встречался у 34 % пациентов. У 22% больных данной группы наблюдали умеренный гиперкератоз, без нарушения структуры рогового слоя, образование роговых корок и пробок в усть-

ях волосяных фолликулов. Также отмечали полиморфное поражение зернистого слоя в виде истончения или его отсутствия, что сочеталось с истончением остистого и мальпигиевого слоя. Зернистый слой был представлен единичными клетками, в цитоплазме которых отмечались вакуоли разного диаметра.

Остистый слой был резко вакуолизирован, особенно в перинуклеарной зоне. Его ядра округлой или слегка овальной формы с неровной поверхностью, ядерная мембрана в большинстве клеток имела «гофрированный» вид из-за краевой маргинация хроматина. В кератиноцитах ос-

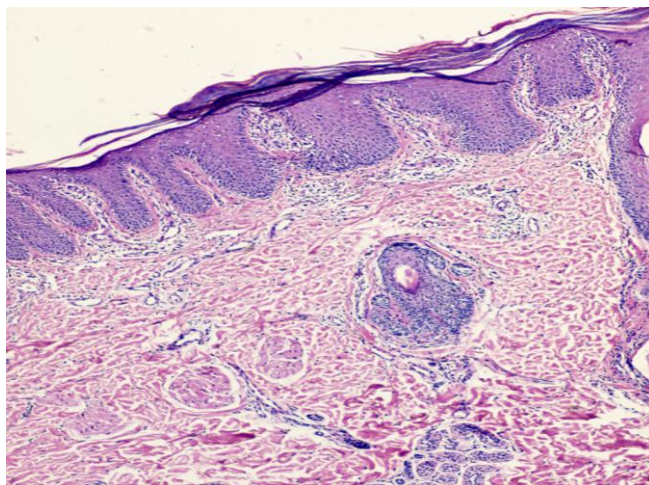


Рис. 2. Равномерный акантоз у больной с НИЭ. Гематоксилин и эозин, х 200

тистого слоя практически всегда оказывались различные виды белковой паренхиматозной дистрофии от зернистой до вакуольной. Кератиноциты базального слоя были местами с гиперхромными удлинёнными ядрами. В базальном, а иногда и в нижних рядах остистого слоя, встречались единичные фигуры митоза.

У больных с ВИ дермо-эпидермальная граница четко определялась на всем протяжении биоптатов, базальная мембрана на отдельных участках выглядела утолщенной и неравномерно окрашивалась реактивом Шиффа. Более бледная окраска, что свидетельствовало об уменьшении ШИК-положительных веществ типа нейтральных мукополисахаридов, обычно проявлялась в местах наиболее выраженного отека, над сосочками дермы. Здесь базальная мембрана име-

ла нечеткие контуры и выглядела размытой. Подобные изменения базальной мембраны, возможно, способствуют повышению ее проницаемости.

У больных с НИЭ базальная мембрана дермо-эпидермального соединения на всем протяжении была неравномерно утолщена, распушена, местами с очаговым накоплением нейтральных мукополисахаридов и несulfатированных гликозаминогликанов. В обеих исследуемых группах в дерме наблюдался незначительный отек, коллагеновые волокна имели типичное строение, располагались параллельно и перпендикулярно к поверхности кожи. Сосуды поверхностного сплетения, как правило, были с широким просветом, неровной поверхностью эндотелиоцитов с умеренным отеком. Вокруг сосудов располагались одиночные лимфоциты и гистиоциты.

У 82% больных с ВИ и 73% с НИЭ отмечали также уменьшение количества волосяных фолликулов и сальных желез, атрофию потовых желез, удлинение эпидермальных выростов, снижение митотической активности базальных эпителиоцитов, незначительные периваскулярные лимфоцитарные инфильтраты сосочкового слоя дермы. Среди клеток лимфоидного ряда вокруг сосудов иногда выявлялись единичные тканевые базофилы (ТБ).

После проведенного ступенчатого лечения ретиноидами гистологическая картина улучшалась за счет появления зернистого слоя, истончения рогового слоя и утолщение ростковой части эпидермиса с $0,046 \pm 0,004$ до $0,057 \pm 0,003$ мм у больных с ВИ и с $0,238 \pm 0,033$ до $0,192 \pm 0,006$

мм ($p < 0,001$) соответственно с сухим типом НИЭ (табл. 1).

После ступенчатой терапии с использованием ретиноидов в данных группах отмечалось уменьшение вакуолизации клеток базального и остистого слоя, увеличение количества клеток зернистого слоя и появление в их цитоплазме немногочисленных кератогиалиновых гранул, что хорошо заметно как при использовании гематоксилин и эозина (рис. 3), так и при окраске кислым раствором основного коричневого. Роговые чешуйки плотно прилегали друг к другу и имели гомогенную структуру. Периваскулярные лимфо-гистиоцитарные инфильтраты и тканевые ТБ практически не встречались в субэпителиальных отделах дермы при ВИ.

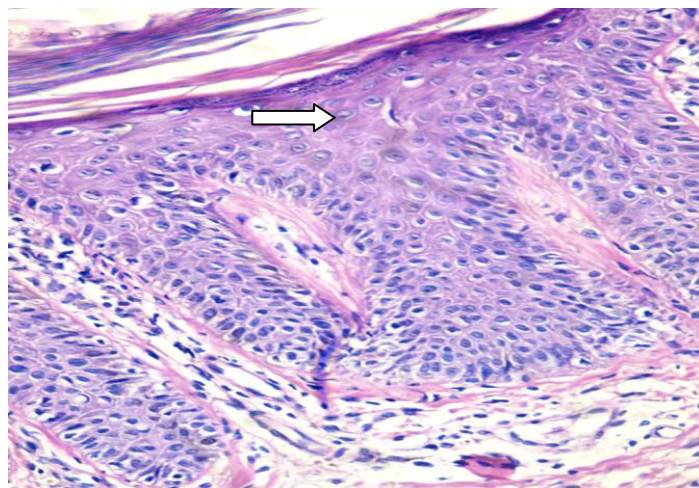


Рис. 3. Появление зернистого слоя (стрелка) у больного с небуллезной ихтиозиформной эритродермией после ступенчатого лечения ретиноидами. Акантоз, периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация субэпидермальных отделов легкой степени. Гематоксилин и эозин, х 400

Количественный состав их до лечения и после применения ретиноидов был статистически недостоверным ($p > 0,05$), однако при НИЭ их плотность существенно уменьшалась ($p < 0,05$) по сравнению с группой больных до лечения (табл. 2). При изучении препаратов, окрашенных основным коричневым, среди клеток дермальных инфильтратов у больных НИЭ выявляли отдельные ТБ, некоторые из них находились в дегранулированном состоянии. Среднее количество ТБ в коже больных НИЭ до лечения составляла $460 \pm 77,74$ на 1 мм^2 .

У всех больных с НИЭ уменьшения количества тучных клеток в гистологических препаратах сопровождалось клиническим улучшением дерматоскопической картины.

Таким образом, у больных с ВИ и НИЭ патогистологические изменения эпидермиса и дермы характеризовались значительным истончением росткового эпидермиса, за счет уменьшения количества зернистых кератиноцитов или отсутствующего зернистого слоя и умеренным гиперкератозом, без нарушения структуры рогового слоя, очаговым акантозом при ВИ распространенным при сухой форме НИЭ. Отмечалась склонность рогового слоя погружаться в волосяную воронку с образованием роговых пробок, уменьшения количества волосяных фолликулов и потовых желез. Сальные железы в большинстве случаев были атрофированы и состояли из малодифференцированных (камбиальных) клеток.

Таблица 2

Плотность распределения тканевых базофилов дермы (в расчете на 1 мм^2)

Нозология	Тканевые базофилы		Р
	До лечения	После лечения	
Вульгарный ихтиоз	$220 \pm 49,98$	$230 \pm 49,55$	$< 0,1$
Ихтиозиформная эритродермия небуллезная форма	$460 \pm 77,74$	$260 \pm 52,06$	$< 0,05$
Ихтиозиформная эритродермия буллезная форма	$530 \pm 66,74$	$330 \pm 53,85$	$< 0,05$
Р	$< 0,001$	$< 0,05$	

В отличие от больных с ВИ и НИЭ у пациентов с буллезной формой ихтиозиформной эритродермии (БИЭ) отмечали деструкцию не только рогового, но и зернистого и остистого слоев. Характерным была гранулярная

деструкция эпидермиса, которую большинство авторов называют эпидермолитическим гиперкератозом [8, 9, 10, 12, 15, 17]. Эти изменения отмечались в основном в участках пузырьков, однако их можно было видеть и

вне связи с ними. Кроме того, в клетках зернистого и верхних рядов остистого слоя наблюдали перинуклеарный отек, занимавший всю цитоплазму клетки, деструкцию клеток эпидермиса с явлениями эпидермолиза. Наряду с сохраненным строением базального слоя обнаруживали разрывы межклеточных соединений в остистом слое с появлением базофильных включений в цитоплазме, грануляр-

ной дегенерацией, расширением зернистого слоя и увеличением количества кератогиалиноподобных и апоптозных телец различного размера и формы в цитоплазме кератиноцитов, утолщением рогового слоя (компактный и сетчатый гиперкератоз) с элементами паракератоза (рис. 4), акантозом эпидермиса с удлинением межсосочковых выростов, папилломатозом дермальных сосочков.

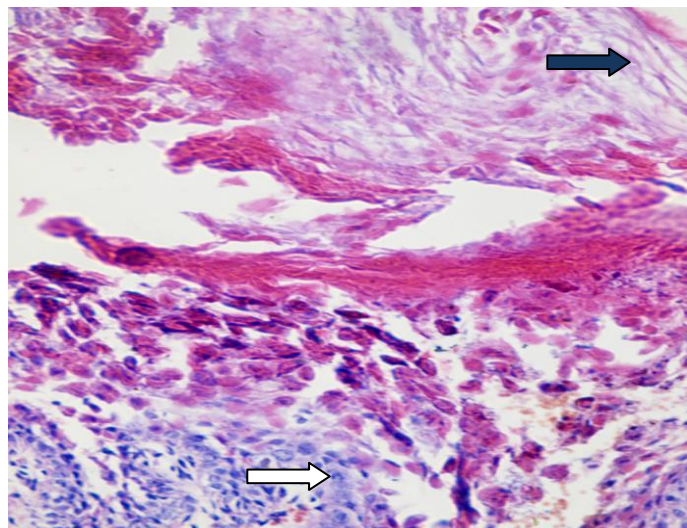


Рис. 4. Эпидермолитический гиперкератоз у больного с буллезной формой ихтиозиформной эритродермии. Элементы паракератоза (черная стрелка), большое количество кератогиалиноподобных и апоптозных телец различного размера и формы в цитоплазме кератиноцитов (белая стрелка).

Гематоксилин и эозин, х 400

У 97% больных БИЭ наблюдали значительное утолщение рогового слоя (компактный гиперкератоз) с элементами паракератоза у 24% больных, неравномерный акантоз, незначительный папилломатоз. Волосяные

фолликулы отсутствовали или дистрофически изменены. Зернистый слой местами утолщен до 6-7 рядов клеток, однако практически не содержит кератиновых гранул в верхних и переполнен ними в нижних отделах,

что подтверждалось при окраске основным коричневым, на десквамированных участках истончен или отсутствует. Кератиновые гранулы были в виде эозинофильных и базофильных телец. В паракератотических участках эпидермиса местами находили микро-везикулы, заполненные серозным содержимым. В дерме обнаруживали резко выраженный отек преимущественно в верхней ее части, расширение и повышенную пролиферацию кровеносных сосудов, очагово-лимфогистиоцитарные инфильтраты с выраженным экзоцитозом лимфоцитов.

По данным морфометрического исследования толщина рогового слоя до лечения в среднем составляла $0,272 \pm 0,017$, толщина эпидермиса $0,317 \pm 0,018$ мм., что статистически достоверно ($p < 0,01$) превышало полученные показатели в группах ВИ и НИЭ (табл. 1). В отличие от БИЭ у 97% пациентов с ВИ и 80% из НИЭ роговой слой был умеренно ШИК-положительный, и его цвет не менялся после гидролиза амилазой слюны, что указывало на повышенное содержание в нем нейтральных гликопротеинов. По нашему мнению, одной из причин замедленного отшелушивания чешуек у больных ихтиозом может быть повышенное содержание мукополисахаридов в роговом слое. Кроме того, в цитоплазме остистых клеток также оказывались в умеренном количестве кислые гликопротеины. У

30% пациентов с БИЭ в роговом слое сохранялись ядра клеток. Клетки остистого слоя были больших размеров, ядра их округлялись, гомогенизировались, становились набухшими, интенсивнее окрашивались красителями, были гипер и гипохромными, местами окруженными узкой зоной просветления. Гомогенная протоплазма резко проявлялась в виде четкого ободка по периферии клетки. Все это свидетельствовало о формировании акантолитических клеток у больных с БИЭ. Внутриклеточный отек приводил к полному распаду вещества клетки. Отдельные клетки мальпигиевого слоя подвергались дегенерации, набухали и приобретали вид шаров или баллонов.

В ретикулярном слое дермы наряду с усилением застоя и отека верхней его трети и расширением сосудов усиливалась степень фибриноидных изменений, что выражалось в более выраженном отеке коллагеновых волокон и появлением в них значительного количества кислых мукополисахаридов. При окраске препаратов ШИК-альциановый синим (рН 2,5) базальная мембрана у 79% больных БИЭ была утолщена и распущена, красилась в интенсивно малиновый цвет, а при окраске по ван Гизону приобретала желтоватый оттенок. По нашему мнению увеличение ШИК-положительной субстанции в базальной мембране связано с нарушением

обмена веществ соединительной ткани. Увеличение количества этих групп в соединительной ткани у больных ихтиозом можно связать с освобождением их в результате разрыва межмолекулярных связей, возникающих при дезорганизации соединительной ткани. У пациентов с БИЭ наблюдался более значительный отек по сравнению с ВИ и НИЭ, усиливалась гипоксия, сопровождавшееся появлением кислых гликопротеинов, повышенной проницаемости сосудистой стенки, нарушением функциональной активности клеток дермы. Полученные нами признаки снижения оксигенации соединительнотканых дифферонов кожи наблюдали также и D. Tavian с соавторами (2009), которые обнаружили редукцию экспрессии фибронектина вследствие ингибирования потребления кислорода соединительноткаными элементами дермы [13]. Вокруг сосудов наблюдались очаговые инфильтраты из лимфоидных элементов, фибробластов и ТБ. Последние в основном были в состоянии повышенной функциональной активности, т.е. содержали в цитоплазме большое количество зрелых гранул. Часть из них находилась в состоянии дегрануляции: микроскопически оказывались клеточные фрагменты разной величины, а в дерме – свободно находились базофильно окрашенные гранулы. Среднее количество ТБ в коже до лечения варьировала от 3 до 9 на $0,01 \text{ мм}^2$ или

от 300 до 900 на 1 мм^2 и в среднем составляла $530 \pm 66,74$ (табл. 2). Из них 20% были в состоянии дегрануляции. В результате морфометрического исследования установлено, что количество ТБ в коже больных БИЭ была статистически значимо выше ($p < 0,001$), чем в группе с ВИ и НИЭ соответственно $220 \pm 49,98$ и $460 \pm 77,74$. При этом в коже больных с ВИ и НИЭ дегранулированные ТБ были обнаружены лишь в 42% и 60% больных, в то время как в коже больных БИЭ до лечения ТБ в состоянии дегрануляции оказывались в большинстве полей зрения во всех биоптатах. Этот факт подтверждает активное участие тучных клеток в патогенезе и формировании воспаления именно при БИЭ, выраженность которого, наряду с другими факторами, определяет степень тяжести клинических проявлений.

После проведенного ступенчатого лечения с использованием ретиноидов морфологическое исследование выявляло нормализацию гистологической и гистохимической структуры кожи, что проявлялось в накоплении и упорядочении зерен кератогиалина в зернистом слое. Чешуйки рогового слоя имели более четкую структуру, располагались плотно и более упорядоченно, чем до лечения. Количество рядов остистого слоя в большинстве препаратов не превышало 7. Однако у отдельных больных с неполным регрессом гиперкератоза

сохранялось умеренно выраженное утолщение остистого слоя (не более 9-10 рядов). При изучении рогового слоя в трех случаях обнаружены следы ядер в роговых чешуйках. Во всех препаратах гиперкератоз имел компактный или сетчатый характер, иногда он менялся в пределах одного препарата. Роговой слой становился тоньше и давал слабую ШИК-положительную реакцию, что можно связать с уменьшением мукополисахаридов в нем. Дистрофические изменения в эпидермисе уменьшались. Дермо-эпидермальная граница четко определялась на всем протяжении биоптатов. В сосочковом слое дермы выявляли единичные лимфоцитарные инфильтраты. В волосяных фолликулах происходило увеличение рядов клеток.

При изучении взаимосвязей между структурными изменениями в коже и экспрессией эпителием Ki-67 была обнаружена тесная корреляционная зависимость ($r = 0,82$, $p < 0,001$). У больных с БИЭ обнаруживали повышенную пролиферацию эпителиоцитов Ki-67 в базальном слое (рис. 5), которая местами выходила за его пределы и регистрировалась также и в остистых эпителиоцитах, последнее не было характерным для пациентов с ВИ, у которых наблюдали слабую и умеренную экспрессию Ki-67 ($0,807 \pm 0,056$, $p < 0,001$ против $0,412 \pm 0,035$ с ВИ и $0,368 \pm 0,38$ с сухой формой НИЭ соответственно, $p < 0,001$), что свидетельствовало о существенных нарушениях обновления эпителия (табл. 3).

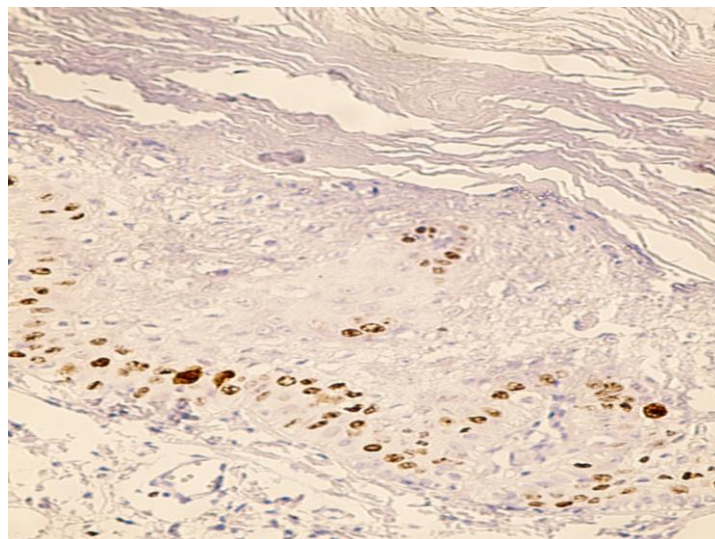


Рис. 5. Сильная экспрессия Ki-67 в эпителиоцитах базального и шиповатого слоев у больного с БИЭ. ИГХ-маркировка Ki-67, х 400

Таблица 3

Пролиферативная активность клеток эпидермиса (Ki-67, $M \pm m$)

Нозология	Индекс пролиферативной активности		Р
	До лечения (n=10)	После лечения (n=10)	
Вульгарный ихтиоз	0,412 ± 0,035	0,321 ± 0,025	<0,05
Ихтиозиформная эритродермия небуллезная форма	0,368 ± 0,38	0,261 ± 0,023	<0,1
Ихтиозиформная эритродермия буллезная форма	0,807 ± 0,029	0,401 ± 0,038	<0,001
Р	<0,001	<0,05	

У больных с ВИ и НИЭ регистрировалась легкая и умеренная активность эпителиоцитов по Ki-67 преимущественно в базальном слое (рис. 2), при этом у пациентов с ВИ индекс пролиферации был достоверно выше $0,412 \pm 0,035$ чем у больных с НИЭ $0,368 \pm 0,38$ ($p < 0,05$).

Оказалось, что после проведения ступенчатого лечения с ретиноидами пролиферативная активность базальных эпителиоцитов Ki-67 достоверно уменьшалась в случаях с ВИ и во всех случаях с БИЭ, ($0,401 \pm 0,038$, $p < 0,001$), по сравнению с сухим типом НИЭ, при котором наблюдали также снижение пролиферативной активности базальных кератиноцитов, однако оно было недостоверным ($p < 0,1$). В результате проведенного иммуногистохимического анализа плотности распределения лимфоцитов установлено статистически достоверное повышение количества лимфоцитов (CD4+) и супрессорных цитотоксических (CD8+) лимфоцитов

в эпидермисе и в дерме у больных с ихтиозом (табл. 4). При изучении их распределения в эпидермальном и дермальном слоях кожи обнаружено, что лимфоциты, локализованные в эпидермисе, представлены преимущественно хелперно-индуцированными (CD4 +) клетками, а лимфоциты, локализованные в дерме, представлены как фракцией CD4+, так и CD8+ клеток. Особенностью распределения CD4+ и CD8+ лимфоцитов у больных с БИЭ было их проникновение (экзоцитоз) в эпидермис (рис. 6), что не наблюдалось в случаях с ВИ и НИЭ.

Как видно с таблицы 2, статистически достоверное ($p < 0,001$) преобладание количества CD4 + и CD8 + наблюдалась в группе пациентов с БИЭ – $790 \pm 11,68$ $510 \pm 90,0$ по сравнению с ВИ и НИЭ $230 \pm 36,66$ (CD4+) и $90 \pm 43,33$ (CD8+); $440 \pm 81,92$ (CD4+) и $310 \pm 85,18$ (CD8+) соответственно, последние были умеренной плотности и располагались преимущественно на границе эпидермально-дермального соединения.

Таблица 4

*Плотность распределения лимфоцитов дермы и эпидермиса
(из расчета на 1 мм²)*

Нозология	Т-хелперы (CD4)		Р	Т-супрессоры (CD8)		Р
	До лечения	После лечения		До лечения	После лечения	
Вульгарный ихтиоз	230±36,66	210± 34,80	<0,1	90±43,33	70±42,35	<0,1
Ихтиозиформная эритродермия небуллезная форма	440±81,92	380±61,10	<0,1	310±85,18	230±73,10	<0,1
Ихтиозиформная эритродермия буллезная форма	790±11,68	350±81,22	<0,001	510±90,0	250±52,17	<0,05
Р	<0,001	<0,05		<0,001	<0,001	

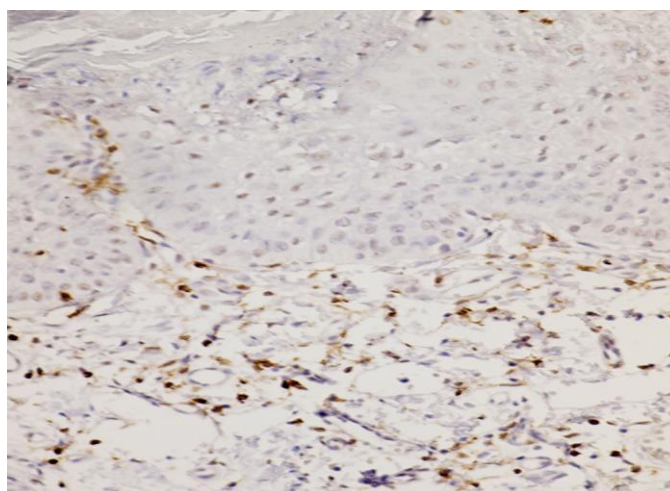


Рис. 6. CD4+ лимфоциты в субэпителиальных отделах дермы с экзоцитозом в эпидермис. БИЭ. ИГХ-маркировка CD4, х400

При анализе биоптатов кожи больных, полученных после проведенного ступенчатого лечения с использованием ретиноидов наблюдали статистически значимое уменьшение количества субпопуляций Т-лимфо-

цитов у больных БИЭ. У пациентов с БИЭ количество CD4 + лимфоцитов лимфоцитов достоверно ($p < 0,001$) снижалось до $350 \pm 81,22$. Количество CD8+ цитотоксических лимфоцитов также достоверно снижалось с $510 \pm$

90,0 до $250 \pm 52,17$ ($p < 0,05$). Однако статистический анализ динамики содержания Т-хелперов после ступенчатой терапии с использованием ретиноидов не выявил достоверных различий с исходными показателями у больных с ВИ и НИЭ данные показатели были недостоверными ($p > 0,05$). Полученные результаты показывают, что параметры иммунитета зависят от степени активности болезни. Об этом свидетельствуют статистически достоверно полученные показатели уровня Т-лимфоцитов в группах с легкой формой течения ихтиоза, к которой мы отнесли группы больных с ВИ и НИЭ где количество CD4 + лимфоцитов составляла $230 \pm 36,66$ и $440 \pm 81,92$, против $790 \pm 11,68$ ($p < 0,001$ и $p < 0,05$) при БИЭ соответственно.

У 89% пациентов с БИЭ исчезал экзоцитоз CD4+ в эпидермис, что подтверждалось данными иммуногистохимического исследования. У 30% больных отмечался неравномерный умеренный межклеточный отек. Происходила нормализация пролиферативной активности клеток мальпигиевого слоя, что является аргументом в пользу антипролиферативного действия ретиноидов. Таким образом, патогистологические исследования, проведенные в динамике установили нормализующее влияние ретинола на морфологическую картину кожи.

В патогенезе ВИ важную роль играет уменьшение количества кера-

тогиалиновых гранул, которое косвенно свидетельствует о снижении или отсутствии экспрессии филаггрина, а также ведет к повышению проницаемости эпидермиса и трансэпидермальной потери воды, обуславливая повышенную сухость и шелушение кожи у больных с ВИ. Учитывая, что сальные железы в пораженной коже состоят преимущественно из камбиальных клеток, мы предполагаем, что причиной сухости кожи при ихтиозе является недостаточная функция салоотделения или ее отсутствие. В нашем исследовании патогистологической особенностью ВИ было снижение или отсутствие зернистого слоя с недостаточностью кератогиалиновых гранул, косвенно свидетельствует об уменьшении или отсутствии филаггрина. У всех больных выявлено изменение гранул кератогиалина в зернистом слое. Они отсутствовали в большинстве случаев при ВИ и НИЭ, однако при БИЭ идентифицировались в виде базофильных и эозинофильных диссоциированных телец с нечеткими контурами. Предполагается, что изменение кератогиалиновых гранул является вторичным по отношению к дефекту в системе тонофиламентов [11].

Результаты нашего исследования показывают, что БИЭ отличается от ВИ и сухого типа НИЭ сочетанием гиперкератоза с акантолизом и наличием патогномоничной зернистой де-

генерации клеток мальпигиевого слоя эпидермиса (акантокератоз). По данным Захаровой Е.К. и соавт. (1997) нарушение агрегации тонофиламентов в супрабазальном слое эпидермиса при БИЭ вызывает широкий диапазон отклонений от нормального состояния до полной деструкции или отсутствия клеточных компонентов [9]. Наличие нескольких клинических фенотипов, морфологическую основу которых составляет эпидермолитический гиперкератоз, свидетельствует в пользу этиологической (генетической) гетерогенности ихтиоза, однако обнаруженные нами отклонения в большей или меньшей степени характерны для всех исследованных случаев. Вполне вероятно, они вторичны по отношению к дефекту в системе тонофиламентов и также являются группоспецифическими по признакам. Эти изменения в целом можно определить как транслокацию внутриклеточных элементов (смещение ядра и органелл вследствие отека); ремоделирование процессов (гомогенизация и овоидные гранулы кератогиалина, неспособность взаимодействовать с тонофиламентами), повреждения механизмов репарации (участки лизиса в клетках).

По результатам гистохимических исследований гиперкератоз расценивается как задержка отторжения роговых клеток в результате повышения адгезивности рогового слоя [2], что согласовывалось с данными полученными в

нашей работе. Десквамация является функцией рогового слоя, которая прежде всего поражена при ВИ [16]. Обнаруженные нами изменения дермы являются проявлением дезорганизации соединительной ткани и отражением развития белковой мезенхимальной дистрофии, которая варьировала по интенсивности. Наряду с дезорганизацией коллагеновых волокон отмечалась очаговая фрагментация и лизис эластичных волокон дермы.

Атрофия сальных желез, как показали наши исследования, сопровождается ихтиозом, приводит к нарушению обмена ретиноидов и является одним из патогенетических моментов этого заболевания. Полученные в данной работе факты показали, что лечение ретиноидами восстанавливало структуру кожи и ее придатков (особенно сальных желез, зернистого и рогового слоев). Таким образом, еще раз подтверждается фармакологическое значение ретиноидов при ихтиозе. Выявленные патоморфологические изменения кожи при ихтиозе свидетельствуют о нарушении функционирования эпидермиса в виде десинхронизации процессов пролиферации, дифференцировки, созревания, формирования эпидермального барьера, а потом десквамации кератиноцитов. Сбой в любом из перечисленных процессов приводит к нарушению функционирования эпидермиса и фенотипически чаще проявляется ихтиозиформным

изменением кожи. По нашему мнению нарушение регенерации эпидермальных кератиноцитов является одним из центральных цепей морфогенеза ихтиоза. Дисрегенерационные нарушения при ихтиозе были представлены повышением пролиферативной активности ДНК-синтезирующих клеток базального и остистого слоев, снижением скорости их дифференциации в процессе постоянного обновления эпителиального слоя. Это – основа развития количественного дисбаланса между соединительнотканными и эпителиальными структурами кожи и функциональной недостаточности последних. Определение нарушения координации между процессами пролиферации и дифференцировки эпителиоцитов при ихтиозе могут быть полезными в прогнозировании болезни, определении ее тяжести и лечебном контроле. В настоящее время нет единого мнения о состоянии клеточного звена иммунитета при ихтиозе. Данные, полученные разными исследователями очень противоречивые. Одним из регуляторов апоптоза в коже являются клетки – эффекторы иммунной системы, чаще Т-лимфоциты. Взаимодействие цитокинпродуцирующих кератиноцитов и лимфоцитов с помощью клеток Лангерганса обеспечивает афферентную фазу иммунной реакции (гуморальную или клеточную) и участвует в регуляции деления клеток.

Именно нарушение этого механизма при ихтиозе остается наиболее невыясненным и является перспективным по разработке потенциально новых методов медикаментозного воздействия при терапии ихтиоза. Иммунное воспаление возникает и нарастает по мере сенсибилизации организма и связано с Т-лимфоцитами в качестве основных эффекторов реакции. В нашем исследовании при изучении иммунного статуса больных ихтиозом отмечена важная роль активации Т-клеточного звена иммунной системы при развитии иммунного воспаления, заключающаяся в повышении абсолютного содержания хелперно-индуцированных (CD4+) и цитотоксических/супрессорных (CD8+) Т-лимфоцитов. Кроме того, мы отметили уменьшение эпидермального акантоза, которое в большей степени коррелировало с уменьшением количества эпидермальных (CD4+), чем дермальных Т лимфоцитов (CD4+). Возможно предположение, что изменения в эпидермисе при БИЭ в ячейках эпидермолиза индуцируются главным образом внутриэпидермальными Т-лимфоцитами. Преобладание Т-лимфоцитов в очагах ихтиоза, можно рассматривать как отражение их активного участия в механизмах повреждения кератиноцитов при ихтиозе. Разработанная нами патогенетически обоснованная комплексная ступенчатая схема дифференциальной терапии ихтиоза,

включающая применение ретиноидов привела к стабилизации заболевания у 76% пациентов с тяжелой формой ихтиоза. Механизм действия ретиноидов при ихтиозиформных дерматозах, вероятно, связан со стимуляцией пролиферации, повышением активности неспецифических эстераз на первых этапах с последующей стабилизацией пролиферативной активности, что подтверждалось нашими данными. При тяжелой (буллезной) форме ихтиоза ретиноиды вызывают временное ухудшение (провоцируют образование пузырьков), однако впоследствии благодаря нормализации дифференцировки и пролиферации кератиноцитов состояние улучшается.

Выводы

1. Патоморфологический анализ биоптатов кожи больных ихтиозом позволил выделить две основные формы течения ихтиоза в зависимости от выраженности патоморфологических изменений: легкую и тяжелую.

2. Для легкой формы ихтиоза характерны следующие патогномические гистологические признаки: значительное истончение росткового эпидермиса за счет уменьшения количества зернистых кератиноцитов или отсутствия зернистого слоя, умеренный гиперкератоз, без нарушения структуры рогового слоя, очаговый акантоз при ВИ и распространенный при сухой форме НИЭ.

3. Для тяжелой формы ихтиоза характерны следующие основные патогистологические признаки: сочетание гиперкератоза с акантолизом и наличием патогномичной зернистой дегенерации клеток эпидермиса (акантокератоз) с образованием базофильных и эозинофильных телец в остистом и зернистом слоях, вакуольная дегенерация всех слоев эпидермиса, очаговый спонгиоз, паракератоз, акантоз, папилломатоз; гистохимически: очаговая альцианофилия рогового слоя и коллагеновых волокон дермы.

4. У больных тяжелой формой (БИЭ) установлена повышенная пролиферация эпителиоцитов Ki-67 в базальном слое ($0,807 \pm 0,056$, $p < 0,001$), которая местами выходила за его пределы и регистрировалась также и в остистых эпителиоцитах, последнее не было характерным для пациентов с легкой формой (ВИ), у которых наблюдали слабую экспрессию Ki-67 ($0,412 \pm 0,035$ с ВИ и $0,368 \pm 0,38$ с сухой формой НИЭ, $p < 0,001$), что свидетельствовало о существенных нарушениях обновления эпителия. Индекс пролиферативной активности эпителиоцитов может быть использован для прогноза течения и контроля лечения больных с тяжелой формой ихтиоза.

5. Иммуногистохимический анализ воспалительных инфильтратов установил преобладание Т-хелпер-индуцированных лимфоцитов с экзоцитозом их в эпидермис при БИЭ $790 \pm 11,68$

($p < 0,001$) по сравнению с ВИ и НИЭ, что подтверждает их участие в индукции иммунного воспаления при БИЭ.

6. Ступенчатая схема лечения ихтиоза с использованием ретиноидов способствует стабилизации и улучшению патоморфологических изменений кожи и может быть предложена для дифференцированной терапии различных форм ихтиоза.

Дальнейшее изучение патоморфологических изменений кожи при ихтиозе с использованием современных гисто- и иммуногистохимических методов будет способствовать углублению знаний о патогенетических звеньях ихтиозиформных эритродермий, позволит объективно их оценивать и на основании полученных результатов применять аргументированный подход в их лечении.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.

2. Александрова А.К. Вульгарный ихтиоз: современный взгляд на проблему / А.К. Александрова, В.А. Смольяникова, Г.И. Суколин // Вестник дерматологии и венерологии. – 2007. – № 2. – С. 13-17.

3. Особенности ладонной дерматоглифики у больных атопическим дерматитом / А.В. Гара [и др.] // Нау-

ка молодых. – Eruditio Juvenium. – 2014. – №2. – С. 88-99.

4. Голофеевский В.Ю. Сочетанная окраска гистологических срезов основным коричневым и прочным зеленым / В.Ю. Голофеевский, С.Г. Щербак // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1987. – № 4. – С. 101.

5. Жильцова Е.Е. Этико-деонтологические и правовые аспекты оказания дерматовенерологической помощи населению / Е.Е. Жильцова // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. – 2013. – № 3. – С. 114-117.

6. Катунина О.Р. Патоморфологические исследования в диагностике заболеваний кожи // Вестник дерматологии и венерологии. – 2009. – №4. – С. 74-79.

7. Куклин В.Т. Ихтиоз (клинико-генеалогические, морфологические, дерматоглифические, функциональные исследования, лечение и реабилитация больных): автореф. дис. ... д-ра мед. наук / В.Т. Куклин. – М., 1987. – С. 3-27.

8. Мнихович М.В. Экспериментально-морфологический анализ закономерностей морфологии кожной раны под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения / М.В. Мнихович, Н.В. Еремин // Наука молодых. – Eruditio Juvenium. – 2014. – №3. – С. 13-26.

9. Патоморфология болезней кожи: руководство для врачей / Г.М. Цветкова [и др.]. – М.: Медицина, 2003. – 496 с.

10. Сапожников А.Г. Гистологическая и микроскопическая техника: руководство / А.Г. Сапожников, А.Е. Доросевич. – Смоленск: САУ, 2000. – 476 с.
11. Симптомокомплекс эпидермолитического гиперкератоза при буллезной врожденной ихтиозиформной эритродермии и иглистом ихтиозе / Е.К. Захарова [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 2000. – № 5. – С. 11-17.
12. Терентьев С.Ю. Клиническое состояние и качество жизни больных псориазом, как критерии эффективности фитоэкдистероидов в комплексной терапии дерматоза / С.Ю. Терентьев [и др.] // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – № 4. – С. 111-115.
13. Ультраструктурные нарушения эпидермиса при дерматозах с симптомокомплексом эпидермолитического гиперкератоза / Е.К. Захарова [и др.] // Вестн. дерматологии и венерологии. – 1998. – № 6. – С. 4-6.
14. A recurrent missense mutation of keratin 1 gene in a Chinese family with epidermolytic hyperkeratosis (severe palmoplantar hyperkeratosis, type 1) / Y.P. Zeng [et al.] // Int J Dermatol. – 2012. – Vol. 51, № 2. – P. 182-185.
15. Altered distribution of keratinisation markers in epidermolytic hyperkeratosis / Ishida Yamamoto [et al.] // Arch Dermatol Res. – 1995. – № 8. – P. 705-711.
16. Cyclic ichthyosis with epidermolytic hyperkeratosis: A phenotype conferred by mutations in the 2B domain of keratin K1 / V.P. Sybert [et al.] // Am J Hum Genet. Mar. – 1999. – Vol. 64, № 3. – P. 732-738.
17. Fibroblast apoptosis in a patient affected by lamellar ichthyosis / D. Tavian [et al.] // J. Cutan. Pathol. – 2009 – Vol. 36, № 4. – P. 17-24.
18. Fleckman P. Absence of the granular layer and keratohyalin define a morphologically distinct subset of individuals with ichthyosis vulgaris / P. Fleckman, S. Brumbaugh // Exp. Dermatol. – 2002. – № 11. – P. 327-336.
19. Histopathologic characterization of epidermolytic hyperkeratosis: A systematic review of histology from the National Registry for Ichthyosis and Related Skin Disorders / Rustin Ross [et al.] // J. Am. Acad. Dermatol. – 2008. – Vol. 59, № 1. – P. 86-90.
20. Ichthyosis update: towards a function-driven model of pathogenesis of the disorders of cornification and the role of corneocyte proteins in these disorders / M. Schmuth [et al.] // Adv. Dermatol. – 2007. – Vol. 23. – P. 231-256.
21. Systematized linear epidermolytic hyperkeratosis / P. Kumar [et al.] // Dermatol Online J. – 2014. – Vol. 20, № 1. – P. 212-248.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Дмитренко С.В. – канд. мед. наук, доц. кафедры кожных и венерических болезней Винницкого национально-го медицинского университета имени Н.И. Пирогова.

21018, Украина, г. Винница, ул. Пирогова, д. 56.

Тел.: 380 (432) 57-03-60.

Вернигородский С.В. – д-р мед. наук, доц. кафедры патологической анатомии, судебной медицины и права Винницкого национального медицинского университета имени Н.И. Пирогова.

21018, Украина, г. Винница, ул. Пирогова, д. 56.

Тел.: 380 (432) 57-03-60.

E-mail: vernsot@rambler.ru