

Иммуногистологические особенности применения препарата скин-кап в сравнении с наружными стероидами у больных атопическим дерматитом

О.В. ЛАТИЙ, И.Э. БЕЛОУСОВА, А.В. САМЦОВ

Immunohistological aspects of Skin Cap application as compared with topical corticosteroids in atopic dermatitis patients

O.V. LATIY, I.E. BELOUSOVA, A.V. SAMTSOV

Кафедра кожных и венерических болезней Военно-медицинской академии, Санкт-Петербург

С помощью гистологического и иммуногистохимического методов исследовали биоптаты кожи больных атопическим дерматитом до и после лечения кремом скин-кап и топическими стероидами. Оценивались изменения эпидермиса, дермы и количественный состав дермального инфильтрата. У больных, получавших терапию кремом скин-кап, наблюдалась более выраженная нормализация некоторых патологических симптомов в эпидермисе и дерме с преобладанием гистиоцитов в клеточном инфильтрате.

Ключевые слова: атопический дерматит, иммуногистохимия, лечение.

Skin samples from patients with atopic dermatitis were examined using histological and immunohistochemical methods before and after the treatment with Skin Cap and topical corticosteroids. Changes in epidermis, dermis, and quantitative composition of dermal infiltrates were evaluated. Patients treated with Skin Cap were found to enjoy better improvement of several pathological symptoms compared with control subjects. Specifically, they showed predominance of histocytes in cellular infiltrates of dermis and epidermis.

Key words: atopic dermatitis, immunohistochemistry, treatment.

Vestn Dermatol Venerol 2005; 1:46—50

Согласно современным представлениям, атопический дерматит (АтД) — генетически обусловленное, хроническое, рецидивирующее заболевание кожи. Оно характеризуется интенсивным зудом, сухостью кожи, воспалением и экссудацией, приводит к физической и эмоциональной дезадаптации пациента и членов его семьи. Первые симптомы обычно появляются в раннем возрасте, в 50% случаев диагноз устанавливается к первому году жизни [1]. АтД, как правило, длительное заболевание, не менее $\frac{1}{3}$ пациентов страдают им непрерывно в течение всей жизни. Заболевание обычно передается по наследству и часто сочетается с астмой, пищевой аллергией, аллергическим ринитом и рецидивирующими кожными инфекциями. В последние десятилетия распространенность АтД неуклонно возрастает [2]. В развитых странах около 10—15% детей в возрасте до 5 лет страдают этой болезнью в различных стадиях [2].

Среди механизмов развития АтД ведущее значение придается иммунным нарушениям [3]. Кроме особенностей системной реакции иммунитета существенное патогенетическое значение имеет оценка состояния иммунокомпетентных структур кожи и обусловленных ими патогистологических изменений в эпидермисе и дерме.

Гистологические изменения при АтД зависят от степени остроты процесса и длительности кожных высыпаний. Обычно при гистологическом исследовании кожи в острой стадии АтД в эпидермисе выявляются выраженные в различной степени гиперкератоз, спонгиоз, внутриклеточный отек кератиноцитов

и умеренная гиперплазия эпидермиса, в дерме — периваскулярные инфильтраты различной степени плотности, расширение сосудов поверхностной сети, отек эндотелия капилляров и в меньшей степени — его гиперплазия. Дермальный инфильтрат в острой стадии состоит преимущественно из лимфоцитов с небольшой примесью гистиоцитов (дермальных макрофагов), эозинофильные и нейтрофильные лейкоциты встречаются редко. Тучные клетки обычно обнаруживаются в различных стадиях дегрануляции. Однако данные о состоянии этой клеточной популяции в коже при АтД малочисленны. Найдено некоторое снижение их числа в каждом биоптате при тяжелом течении болезни, что связывают с активацией дегрануляции и разрушением клеток [4]. В хронической стадии болезни более выражены гиперкератоз и гиперплазия эпидермиса, межклеточный отек отсутствует или минимален, количество эпидермальных клеток Лангерганса обычно повышено, а гистиоциты доминируют в дерме, где также увеличивается количество эозинофильных лейкоцитов [5].

Иммуногистохимические исследования показали, что лимфоциты в дермальном инфильтрате имеют преимущественно фенотип $CD3+CD4+CD45RO+$ (фенотип *T*-хелперов — клеток памяти). Кроме того, большинство *T*-клеток экспрессируют высокий уровень кожного лимфоцитарного антигена, определяющий их хоминг и позволяющий участвовать в формировании локальных кожных реакций [4].

Кожа является высокоорганизованным органом, ассоциированным с иммунной системой, и обладает необходимым составом иммунокомпетентных клеток, взаимодействующих с помощью поверхностных ре-

цепторных структур и цитокинов. Имунокомпетентные клетки кожи осуществляют свои функции не как фиксированная ткань, а как рециркулирующие клетки. Таким образом, в коже присутствуют все типы иммунокомпетентных клеток, способных реализовать все типы иммунологических реакций, что в значительной мере определяет формирование иммунокомпетентности кожи в нормальных условиях [5–8].

В настоящее время полное пожизненное излечение от АтД не представляется возможным. Ведение больного заключается в подборе адекватной комбинации вспомогательной базисной терапии и противовоспалительных средств. Терапия в основном имеет симптоматическую направленность: увлажнение кожи и облегчение зуда.

В настоящее время стандартом терапии АтД является эпизодическое применение топических кортикостероидов для быстрого уменьшения симптомов и проявлений заболевания. Однако имеются существенные сомнения в полной безопасности их применения, в особенности длительного, ввиду нежелательных побочных явлений, в первую очередь кожных: атрофии кожи, появления телеангиэктазий, гипопигментации, акне, избыточного роста волос, розацеаподобных высыпаний, и возможных системных эффектов: угнетения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, задержки роста, повышения риска развития глаукомы, катаракты и синдрома Кушинга [9]. Возможность развития этих нежелательных эффектов вынуждает ограничивать интенсивность и продолжительность использования топических кортикостероидов, в особенности у детей, а также на нежных участках кожи, таких как лицо, шея, складки.

В этой связи актуальной является проблема поиска альтернативных методов наружной терапии АтД. В качестве эффективного средства зарекомендовал себя препарат скин-кап, действующим веществом которого является активированный пиритион цинка. Препарат вызывает избирательный цитостаз, в том числе клеток кожи в стадии гиперпролиферации, стабилизирует клеточные мембраны, нормализует активность ряда мембраносвязанных ферментов, содержит поверхностно-активный компонент (метилэтилсульфат), увеличивающий проницаемость кожи для активных субстанций и обеспечивающий их быструю резорбцию и проникновение в глубокие слои

эпидермиса, обладает выраженной гидратирующей активностью [10].

Целью исследования явилось изучение иммуногистологических изменений кожи больных АтД до и после наружной терапии препаратом скин-кап и сравнение их с иммуногистологическими изменениями кожи до и после наружной терапии кремом, содержащим метилпреднизолона ацепонат.

Материал и методы

Для настоящего исследования были взяты больные АтД, которые соответствовали следующим критериям:

- возраст старше 18 лет;
- обострение заболевания на момент взятия биопсии кожи (индекс *SCORAD* 40-90);
- отсутствие применения в наружной терапии кортикостероидных гормонов в течение последних 6 мес.

Всего обследованы 6 больных АтД (3 мужчин и 3 женщин) в возрасте от 18 до 27 лет. У всех больных заболевание началось с первых лет жизни, при этом длительность заболевания составляла 15–27 лет, частота обострений колебалась от 2 до 5 раз в год (у одной больной заболевание носило торпидный характер с кратковременными периодами улучшения длительностью 2–4 нед). Сопутствующей патологией чаще всего являлись аллергические заболевания (у 1 больного — бронхиальная астма, у 2 — поллиноз) и заболевания желудочно-кишечного тракта (у 3). У 3 больных близкие родственники имели аллергические заболевания.

Степень тяжести АтД оценивали по шкале *SCORAD* (Severity scoring of Atopic dermatitis [11]).

Краткие клинические данные 6 больных приведены в табл. 1.

Все пациенты были разделены на 2 группы: в 1-й группе (больные №1–3) назначали только наружную терапию кремом скин-кап, во 2-й группе (больные №4–6) — получали только наружную терапию 0,1% кремом метилпреднизолона ацепоната. Препараты наносили 2 раза в день на очаги поражения кожи в течение 3 нед. Биопсия кожи до и после лечения проводилась круглым скальпелем (punch) диаметром 6 мм в области локтевых сгибов.

Таблица 1. Краткие клинические данные больных

№ п/п	Пол	Возраст на момент биопсии, годы	Длительность заболевания, годы	Число обострений (в год)	Локализация кожного процесса	Индекс <i>SCORAD</i>	
						до лечения	после лечения
1	М	19	18	2	Лицо, шея, локтевые сгибы	62±3,2	14±6,3
2	М	21	19	3	Лицо, шея, грудь, локтевые сгибы	53±6,4	16±8,4
3	Ж	27	27	5	То же	75±3,2	21±6,2
4	Ж	27	23	Торпидный характер	Лицо, шея, грудь, локтевые сгибы, подколенные ямки	80±3,6	23±9,7
5	Ж	22	19	2	Лицо, шея, локтевые сгибы	68±2,6	25±6,5
6	М	18	15	3	Лицо, шея, грудь, локтевые сгибы, подколенные ямки	57±1,8	19±4,6

Таблица 2. Краткая характеристика клеток, экспрессирующих использованные в исследовании антитела

Маркер	Экспрессирующие клетки
<i>CD1a</i>	Эпидермальные клетки Лангерганса
<i>CD3</i>	<i>T</i> -лимфоциты
<i>CD4</i>	Популяция <i>T</i> -клеток-хелперов
<i>CD8</i>	Популяция <i>T</i> -клеток-супрессоров
<i>CD20</i>	<i>B</i> -лимфоциты
<i>CD68</i>	Дермальные макрофаги (гистиоциты)
Фактор VIII	Эндотелий сосудов

Из всех биоптатов кожи по стандартным методикам были приготовлены парафиновые блоки. С каждого парафинового блока были подготовлены 10 гистологических срезов толщиной не более 4 мкм каждый. Один из срезов был окрашен гематоксилином и эозином, второй — азур-эозином, третий — по методике AS. Иммуногистохимическое исследование выполнялось методом АРААР в соответствии со стандартными протоколами [12]. Иммуногистохимическая панель включала в себя следующие антитела: *CD1a*, *CD3*, *CD4*, *CD8*, *CD20*, *CD68*, фактор VIII. Краткая характеристика клеток, экспрессирующих данные антитела, представлена в табл. 2.

Изменения основных гистологических симптомов, наблюдаемых в острой стадии АтД, в полученных гистологических препаратах до и после лечения оценивали полуквантитативным способом: — отсутствие изменений; + изменения слабо выражены; ++ изменения средней степени выраженности; +++ изменения сильно выражены.

Иммуногистохимические препараты оценивались подсчетом средней арифметической количества объектов, экспрессировавших данное антитело, при просмотре 20 полей зрения при максимальном увеличении объектива (×40), при этом значение площади поля зрения было 0,159 мм².

Результаты исследования

Изменения в эпидермисе оценивались по гистологическим препаратам, окрашенным гематоксилином и эозином и по методике AS.

Характерными для всех больных гистологическими изменениями эпидермиса до лечения являлись: компактный гиперкератоз с наличием зон паракератоза (или тотальным паракератозом — у 3 больных), акантоз, папилломатоз, спонгиоз, внутриклеточный отек кератиноцитов мальпигиева слоя. Гистологические изменения после лечения у больных 1-й группы характеризовались нормализацией толщины рогового слоя, отсутствием паракератоза, появлением сетчатого рогового слоя, тогда как у некоторых больных 2-й группы после лечения сохранялся умеренный гиперкератоз с очагами паракератоза. Также у больных 1-й группы после лечения наблюдалось исчезновение межклеточного отека с более выраженной нормализацией степени акантоза и папилломатоза. Различий в степени нормализации вакуольной дистрофии клеток мальпигиева слоя у больных обеих групп после лечения выявлено не было. Степень выраженности изменений эпидермиса у больных 1-й и 2-й групп до и после лечения приведена в табл. 3 и 4.

Изменения в дерме оценивались по гистологическим препаратам, окрашенным гематоксилином и эозином, азур-эозином и по методике AS. Степень выраженности сосудистых изменений оценивалась также по иммуногистохимическим препаратам с экспрессией фактора VIII.

Изменения в дерме у больных обеих групп после лечения характеризовались снижением количества расширенных сосудов поверхностной сети, уменьшением отека и гиперплазии эндотелия сосудов без значительного различия между группами больных. У больных 1-й группы наблюдалось более выраженное уменьшение плотности периваскулярных инфильтратов по сравнению с исходным уровнем. Степень выраженности изменений в дерме у больных обеих групп до и после лечения отражена в табл. 5 и 6.

Количество эпидермальных клеток Лангерганса было повышено у больных обеих групп до лечения, но

Таблица 3. Гистологические изменения в эпидермисе у больных 1-й группы до (I) и после (II) лечения

Гистологические симптомы	Больной №1		Больной №2		Больная №3	
	I	II	I	II	I	II
Гиперкератоз	++	—	+++	+	+++	+
Ортокератоз (+—)	+	+	—	+	—	+
Паракератоз (+—)	+	—	+	—	+	+
Сетчатый гиперкератоз (+—)	—	+	—	+	—	+
Компактный гиперкератоз (+—)	+	—	+	+	+	+
Акантоз	++	—	+++	—	+++	—
Папилломатоз	++	—	+++	—	++	—
Спонгиоз	+++	+	+++	—	+++	+
Вакуольная дистрофия клеток мальпигиева слоя	++	+	++	+	++	+

Таблица 4. Гистологические изменения в эпидермисе у больных 2-й группы до (I) и после (II) лечения

Гистологические симптомы	Больная №4		Больная №5		Больной №6	
	I	II	I	II	I	II
Гиперкератоз	++	++	++	++	++	++
Ортокератоз (+-)	-	+	+	+	+	+
Паракератоз (+-)	+	+	+	+	-	-
Сетчатый гиперкератоз (+-)	-	-	-	+	-	+
Компактный гиперкератоз (+-)	+	+	+	+	+	-
Акантоз	++	++	++	++	+++	++
Папилломатоз	+	+	+	++	+++	++
Спонгиоз	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Вакуольная дистрофия клеток мальпигиева слоя	++	+	++	+	+++	+++

Таблица 5. Гистологические изменения в дерме у больных 1-й группы до (I) и после (II) лечения

Гистологические симптомы	Больной №1		Больной №2		Больная №3	
	I	II	I	II	I	II
Расширение сосудов поверхностной сети	++	+	++	+	+++	++
Отек эндотелия сосудов поверхностной сети	+++	+	++	-	++	-
Гиперплазия эндотелия сосудов поверхностной сети	-	-	+	-	++	-
Отек сосочкового слоя дермы	+	-	+	-	-	-
Плотность периваскулярных инфильтратов	++	+	+++	+	++	+

Таблица 6. Гистологические изменения в дерме у больных 2-й группы до (I) и после (II) лечения

Гистологические симптомы	Больная №4		Больная №5		Больной №6	
	I	II	I	II	I	II
Расширение сосудов поверхностной сети	+++	+++	++	+	++	+
Отек эндотелия сосудов поверхностной сети	++	+	++	+	++	+
Гиперплазия эндотелия сосудов поверхностной сети	++	+	-	-	+	-
Отек сосочкового слоя дермы	+	-	-	-	+	+
Плотность периваскулярных инфильтратов	++	++	+	+	++	+

уменьшилось до нормального уровня у больных 2-й группы после лечения.

Состав клеточного инфильтрата был представлен *T*-лимфоцитами, гистиоцитами, единичными *B*-лимфоцитами, тучными клетками в разной степени дегрануляции, небольшим количеством эозинофильных лейкоцитов. Количественная оценка состава клеточного инфильтрата показала, что соотношение *T*-лимфоцитов и гистиоцитов у больных обеих групп до лечения было 2:1, среди *T*-лимфоцитов отношение *T*-хелперов и *T*-супрессоров было 4:1. У больных 1-й группы после лечения гистиоциты стали преобладать в клеточном инфильтрате (соотношение *T*-лимфоцитов и гистиоцитов 1:2), тогда как у больных 2-й груп-

пы количество гистиоцитов и *T*-лимфоцитов стало практически одинаковым. Количество *T*-супрессоров значительно снизилось у больных обеих групп.

Эозинофильные лейкоциты в периваскулярных инфильтратах у больных обеих групп до и после лечения были в единичном количестве без существенной разницы между группами.

Количество клеток, экспрессировавших *CD1a*, *CD3*, *CD4*, *CD8*, *CD20* и *CD68* у больных 1-й и 2-й группы до и после лечения, представлено в табл. 7.

Известно, что у больных АтД отмечается снижение количества макрофагов в дерме, которые выполняют в коже ряд важнейших функций: воспринимают антигенную информацию и представляют

Таблица 7. Количество клеток, экспрессировавших CD1a, CD3, CD4, CD8, CD20 и CD68 у больных 1-й и 2-й групп до (I) и после (II) лечения, полученное при подсчете среднего арифметического после просмотра 20 полей зрения при увеличении объектива 40 (площадь поля зрения 0,159 мм²)

Антитела	Больной №1		Больной №2		Больная №3		Больная №4		Больная №5		Больной №6	
	I	II										
CD1a	14,3	10	9,1	8	12	7,6	10,6	5,5	15	4,2	12,2	3
CD3	8,1	1,5	12	4,3	10	2,4	15,1	6,4	9,4	8,7	16,8	5,3
CD68	4,3	2,8	6,2	8,2	5	4,8	7,2	7,3	5	7,5	8,5	5,1
CD20	2	—	1,1	1,5	1,3	—	—	—	0,6	—	0,8	—
CD4	5,9	4,4	10	2	6,2	1,2	9,8	5,2	7,8	6,4	10,5	3,2
CD8	1,2	0,8	2	0,2	1,3	0,3	2,5	—	1,3	0,3	1,6	0,6

ее лимфоцитам, участвуют в реализации цитотоксического надзора, оказывают влияние на пролиферацию и дифференцировку T-лимфоцитов, в том числе они детерминируют переход Th0-клеток в клетки I и II типов. Повышение количества дер-

мальных макрофагов у больных 1-й группы после лечения кремом скин-кап, дает основание использовать этот препарат в лечении больных АД с учетом патогенетических особенностей данного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Leung D.Y.M. Atopic dermatitis: immunology and treatment with immune modulators. Clin Exp Immunol 1997;107:25–30.
2. Hanifin J.M. Epidemiology of atopic dermatitis. Immunol Allergy Clin NA 2002;22:1–24.
3. Кунгуров Н.В. Иммунологические аспекты атопического дерматита. Вестн дерматол 1999;3:14–17.
4. Leung Y.M., Soter N.A. Cellular and immunologic mechanisms in atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol 2001;44:S1–S12.
5. Hogan A.D., Burks A.W. Epidermal Langerhans' cells and their function in the skin immune system. Ann Allergy Asthma Immunol 1995;71:1:5–10.
6. Hauser C. The interaction between Langerhans cells and CD4+ T-cells. J Dermatol 1992;19:11:722–725.
7. Kagi M.K., Wuthrich B., Montano E. et al. Differential cytokine profiles in peripheral blood supernatants and skin biopsies from patients with different forms of atopic dermatitis, psoriasis, and normal individuals. Int Arch Allergy Immunol 1994;103:332–340.
8. Robert C., Kupper T.S. Inflammatory skin diseases, T-cells, and immune surveillance. N Engl J Med 1999;341:1817–1828.
9. Hill C.J. Adverse effects from topical steroids. Cutis 1978;21:624–628.
10. Самсонов В.А., Диамант Л.Е., Иванова Н.К. Скин-кап в терапии больных псориазом. Вестн дерматол 2000;5:24–27.
11. Severity scoring of atopic dermatitis: the SCORAD index. Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. Dermatology 1993;186:23–31.
12. Ritter J.H., Adesokan P.N., Fitzgibbon J.F. et al. Paraffin section immunohistochemistry as an adjunct to morphologic analysis in the diagnosis of cutaneous lymphoid infiltrates. J Cutan Pathol 1994;21:481–493.

Поступила 14.04.04