

# Об отношении склеро-атрофического лихена к ограниченной склеродермии (иммуногистохимическое исследование)

Романенко К.В.

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

## ЩОДО ВІДНОШЕННЯ СКЛЕРО-АТРОФІЧНОГО ЛИХЕНУ ДО ОБМЕЖЕНОЇ СКЛЕРОДЕРМІЇ (ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Романенко К.В.

З метою виявлення імуногістохімічних особливостей стану дерми і епідермісу при склеро-атрофічному лихені в порівнянні з обмеженою склеродермією в стадії набряку було проведено дослідження маркерів: *CD3+*, *CD8+*, *CD20+*, *CD79α+*, *CD68+*, *CD1α+*, *CD79α+*, *CD68+*, *CD1α+*, *CD34+*, *CD105+*,  $\alpha$ SMA, виментин, *eNOS*, *Ki67*, колаген IV, *bcl2*, каспаза 3. Виявлено, що імуногістохімічна картина при склеро-атрофічному лихені щодо імунної ланки та стану дермальних дендроцитів наближається до тої, що існує на стадії набряку при обмеженій склеродермії. Кількість і розподіл клітин, позитивних на ендоглін і *eNOS*, свідчить про спільні шляхи патогенезу фіброзу при цих захворюваннях. При склеро-атрофічному лихені дермальні дендроцити залучені в апоптотичні процеси в меншій мірі, ніж при обмеженій склеродермії.

## ON THE RELATIONSHIP OF *LICHEN SCLEROSUS ET ATROPHICUS* AND THE LOCALIZED SCLERODERMA (AN IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY)

Romanenko K.V.

To reveal the immunohistochemical features of the derma and epidermis in cases of *Lichen sclerosus et atrophicus* (LSA) as compared to the localized scleroderma at the stage of edema, a study of the *CD3+*, *CD8+*, *CD20+*, *CD79α+*, *CD68+*, *CD1α+*, *CD34+*, *CD105+*,  $\alpha$ SMA, vimentin, *eNOS*, *Ki67*, collagen IV, *bcl2* and caspase 3 markers has been done. It has been revealed that the immunohistochemical pattern under LSA with respect to both the immune component and state of dermal dendrocytes approaches the one that exists at the stage of edema under the localized scleroderma. The number and distribution of cells positive to endoglin and *eNOS* are indicative of common ways of fibrosis pathogenesis under these diseases. Under LSA the dermal dendrocytes are involved in apoptotic processes less than under the localized scleroderma.

Склеро-атрофический лихен (САЛ; *син.*: каплевидная склеродермия, болезнь белых пятен, белый лишай Цумбуша, крауроз вульвы, крауроз полового члена) – хроническое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся очаговой атрофией кожи и слизистых. Участки поражения представлены белыми плотными папулами и бляшками неправильной формы с четкими границами [1]. Описаны случаи сочетания САЛ и ограниченной склеродермии (ОС) [2]. В последние годы возможности изучения патогенеза склеродермии расширились благодаря иммуногистохимическим (ИГХ) методам исследования [3].

**Цель работы** – выявление изменений в со-

ставе клеток дермы и эпидермиса; клеток иммунного ряда; синтезе коллагена IV типа, эндотелиальной синтазы оксида азота, эндоглина при САЛ в сравнении с ОС на стадии отёка.

**Материал и методы исследования.** Для морфологического и иммуногистохимического исследования использовали парафиновые блоки биопсийного материала, взятого у 12 больных САЛ и ОС на стадии отёка. После рутинного патогистологического исследования, срезы толщиной 4-6 мкм наносили на адгезивные стекла SuperFrost Plus и депарафинизировали по стандартной методике. Затем проводили нагревание в цитратном буфере с  $pH = 6,0$  в автоклаве (8 мин. при температуре  $+121^{\circ}C$ ).

С целью определения экспрессии ИГХ маркеров использовали спектр антител, которые включали маркеры:

- CD3+ (клон SP7, LabVision);
- CD8+ (клон SP16, LabVision);
- CD20+ (клон L26, LabVision);
- CD79α+ (клон SP18, LabVision);
- CD68+ (клон KP1, LabVision);
- CD1α+ (клон MTB1, LabVision);
- CD34+ (клон QBEnd/10, LabVision);
- CD105+ (клон SN6h, LabVision);
- αSMA (клон 1A4, LabVision);
- виментин (клон SP20, LabVision);
- eNOS (клон LabVision);
- Ki67 (клон SP6, LabVision);
- коллаген IV (клон PHM-12, LabVision);
- bcl2 (клон 100/D5, LabVision);
- каспаза 3 (клон 3CSP01, LabVision).

Инкубацию срезов с первичными антителами проводили во влажных камерах при температуре 23-25°C в течение 30 мин. Титр антител подбирался индивидуально. Следующий этап ИГХ исследования проводили с использованием систем визуализации *UltraVision LP (LabVision)*; идентификация реакций проводилась с помощью хромогена *DAB* под контролем микроскопа от 20 с до 3 мин. Срезы докрашивали гематоксилином Майера.

**Результаты и их обсуждение.** На стадии отёка ОС в периваскулярных инфильтратах, мононуклеарных скоплениях вокруг придатков кожи преобладали незрелые формы В-лимфоцитов (20-40 %) и Т-лимфоциты (20-40 %), среди последних – Т-супрессоры. В инфильтратах присутствуют макрофаги (до 30 %). Активность *eNOS* в эндотелии сосудов повышена. Синтез *CD105+* наблюдался в дермальных дендроцитах, иммунных клетках инфильтратов и в единичных макрофагах. Среди иммунных, макрофаги составляли наибольшее число *CD105+* клеток. Количество *CD34+* дендроцитов было сниженным, а клеток Ланхгерганса (*CD1α+*), виментин+ и αSMA+ дендритических клеток увеличивалось. В участках вокруг придатков кожи изменения клеточного состава были более существенны. С участками иммунного воспаления была связана повышенная пролиферативная и апоптотическая активность, а также активация антиапоптотических программ. Таким образом, стадия отёка при ОС обуславливает активные измене-

ния как со стороны иммунной системы, так и местные перестройки тканей кожи.

При САЛ лимфоциты, позитивные на *CD3+*, обнаруживались в значительном количестве в участках периваскулярной инфильтрации и в области эпидермодермального перехода. *CD3+* Т-лимфоциты составляли около 60 % всех клеток инфильтрата; при этом около 40 % мононуклеарных клеток были *CD8+* позитивными. Относительная доля *CD20+* клеток, независимо от локализации инфильтрата, составляла 15-20%; при этом доминирующими были *CD79α+* В-лимфоциты. Макрофаги, позитивные на *CD68+*, составляли значительную часть лихеноидного инфильтрата; также в эпидермисе в повышенном количестве обнаруживались клетки Ланхгерганса. *CD105+* клетки обнаруживались в лихеноидном инфильтрате и в эндотелии сосудов в значительном количестве; при этом активность эндотелиальной синтазы оксида азота находилась на низком уровне. Во всех слоях дермы и вокруг придатков кожи значительно снижалось число *CD34+* дендроцитов. Уменьшение количества сосудов также обуславливало снижение реакции с этим маркером. Мы обнаружили увеличение количества виментин-позитивных и αSMA+ клеток с основной локализацией их в поверхностных слоях дермы. Клетки, положительные на виментин, также наблюдались в сосочковом слое дермы, где они формировали мелкие скопления. Расположенные диффузно в значительных количествах, они обнаруживались в сетчатом слое. Выраженность прослойки коллагена IV значительно снижалась в базальной мембране эпидермиса и в меньшей степени – вокруг придатков кожи. Вокруг сосудов мелкого и среднего калибра обнаруживалась повышенная концентрация коллагена этого типа.

При САЛ активная реакция с *Ki67+* обнаруживалась в клетках лихеноидного инфильтрата, тогда как эпидермис базального слоя и придатков кожи демонстрировал сниженную пролиферативную активность. Наиболее значительная реакция на каспазу наблюдалась в клетках инфильтрата, в значительно меньшем количестве обнаруживались позитивные на каспазу дендроциты. Антиапоптотическая активность иммунных клеток в составе инфильтратов была на высоком уровне, а в дермальных дендроцитах доля позитивных на *bcl2* не превышала 10 %.

Таким образом, при САЛ преобладали инфильтраты, насыщенные макрофагами и *T*-лимфоцитами, среди которых большую долю составляли *T*-супрессоры, т. е. по иммунному статусу это состояние является более близким к ОС в стадии отёка. Распределение и количество дермальных клеток (снижение *CD34+*, увеличение виментин-позитивных и  $\alpha$ *SMA+* клеток, клеток Ланхгерганса) свидетельствует об активных воспалительных процессах наряду с прогрессированием фиброзных изменений. На общность механизмов развития фиброза при САЛ и ОС указывали повышение уровня *CD105+* клеток и существенное снижение уровня эндотелиальной синтазы оксида азота. Судя по изменениям в распределении коллагена IV типа, перестройки в составе матриксных белков и белков базальных мембран при САЛ также имели общие черты с ОС. Во всех изученных случаях ОС и САЛ повышенная пролиферативная активность была связана с участками инфильтрации; дендроциты, позитивные на *Ki67*, встречались очень

редко. Таким образом, повышение количества позитивных на виментин и  $\alpha$ *SMA* дермальных клеток связано со сменой фенотипа в большей степени, чем с размножением. При САЛ в меньшей степени, чем при ОС, дермальные дендроциты вовлечены в апоптотические и параллельные им антиапоптотические изменения. Активность каспазы 3 и *bcl2* в клетках инфильтратов находится приблизительно на одном уровне при ОС (стадия отёка) и САЛ.

**Выводы.** Иммуногистохимическая картина при склеро-атрофическом лихене, как в отношении иммунного звена, так и состояния дермальных дендроцитов, приближается к той, что существует на стадии отёка при ограниченной склеродермии. Количество и распределение клеток, позитивных на эндоглин и *eNOS*, свидетельствует об общих путях патогенеза фиброза при этих заболеваниях. При склеро-атрофическом лихене дермальные дендроциты вовлечены в апоптотические процессы в меньшей степени, чем при ограниченной склеродермии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Романенко К.В. Сочетание склеро-атрофического лихена и бляшечной склеродермии / Питання експериментальної та клінічної медицини: Зб. статей. - Вип. 13, Т. 2. - Донецьк, 2009. - С. 131-136.
2. Вулф К., Джонсон Р., Сюрмонд Д. Дерматология по Томасу Фицпатрику: Атлас-справочник. - М.: Практика, 2007. - 1248 с.
3. Савенкова В.В. Особенности морфо- и патогенеза кожи больных очаговой склеродермией в острой стадии заболевания // Дерматология та венерология. - 2008. - № 4 (42). - С. 26-30.