

Особенности экспрессии *CD68+* макрофагов в коже и слизистой 12-перстной кишки у больных псориазом, ассоциированным с глютенковой энтеропатией

Яссер Халед Абдель Карим Масадех

Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского»

Обследовано 36 больных псориазом с индексом *PASI* от 3 до 27 баллов, у которых была позитивная реакция при определении титра антител к эндомицину (ЭМА) класс *IgA*. При эндоскопическом и гистологическом анализе слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки (СО ДПК) выделены три группы больных псориазом и целиакией в зависимости от стадии целиакии: 1 группа ($n = 17$) – инфильтративная стадия; 2 группа ($n = 12$) – гиперпластическая стадия; 3 группа ($n = 7$) – атрофическая стадия. Увеличение количества *CD68+* макрофагов в воспалительном инфильтрате СО ДПК и коже в зависимости от стадии является важным моментом в понимании патогенеза аутоиммунного процесса при псориазе, ассоциированном с глютенковой энтеропатией (ГЭП). Наличие межэпидермальных *CD68+* макрофагов в атрофическую стадию является гистологической особенностью псориазического поражения кожи у больных с ГЭП.

Ключевые слова: псориаз, целиакия, макрофаги, иммуногистохимия

Связь болезней кожи с патологией кишечника известна давно; особенно подробно изучены поражения кожи, ассоциированные с целиакией [1, 9-11, 15, 17].

Глютенчувствительная целиакия или глютенковая энтеропатия (ГЭП) – заболевание тонкой кишки, обусловленное иммунным ответом на растительный белок глютен. Сложности диагностики ГЭП связаны с чрезвычайным разнообразием клинических проявлений – от крайне тяжелого нарушения всасывания на фоне хронической диареи до малосимптомного течения или проявления внекишечных симптомов, в том числе и псориаза [3, 7, 13, 15, 18].

Развитие иммунного ответа на глиадин при ГЭП определяется активацией иммунной системы, ассоциированной со слизистой оболочкой (СО) тонкой кишки. А. И. Парфенов предположил, что имеет место развитие двух вариантов развития иммунного ответа и формирования специфических антител в экстрацеллюлярном матриксе собственной пластинки СО тонкой кишки [3]. Первый путь осуществляется посредством макрофагов, захватывающих глиадин с последующей передачей информации *T*- и *B*-лимфоцитам. *T*-хелперы интенсивно экспрессируют антигены гистосовместимости *HLA DR*, активирующие рецепторы *CD40L* на *B* лимфоцитах и вызывают пролиферацию и дифференцировку плазматиче-

ских клеток, продуцирующих антитела к глиадину. С другой стороны, иммунный ответ на глиадин связан с образованием комплекса глиадин с тканевой трансглутаминазой (ТТГ), который обладает сродством к *HLA DQ2* или *HLA DQ8* на *B*-лимфоцитах и активизирует пролиферацию и дифференцировку плазматических клеток, которые синтезируют антитела к глиадину. Вновь образованный комплекс глиадин с ТТГ приводит к образованию антиглиадиновых антител, антител к ТТГ (АТТГ) и эндомицину. Дезаминированный глиадин активирует синтез провоспалительных цитокинов *T*-лимфоцитами. Увеличение числа межэпителиальных лимфоцитов (МЭЛ) – неспецифический ответ на повреждение эпителиоцитов является самым ранним морфологическим проявлением целиакии [7, 13, 18-20].

Псориаз, как мультифакторное хроническое рецидивирующее заболевание, также имеет сходные звенья патогенеза с ГЭП и сопровождается развитием аутоиммунных реакций в коже, что доказано многочисленными исследователями [2, 4, 6, 12, 16]. Согласно этим данным, псориаз рассматривается как аутоиммунное заболевание, которое может быть системным проявлением целиакии или ассоциированным с целиакией, т. к. повышение кишечной проницаемости тонкой кишки снижает барьерную функцию и позволяет токсинам проникать из кишечника сначала в гуморальную

среду, а затем – в кожу с последующим появлением псориатических бляшек [10, 11, 15]. При этом антигенпрезентирующие клетки, такие как дендритные клетки и макрофаги, высвобождают цитокины *IL-12* и *IL-23*, которые активируют дифференциацию *Th*-клеток до форм *Th1* и *Th17*. Эти клетки, в свою очередь, высвобождают провоспалительные факторы, которое поддерживают воспаление, а также способствуют пролиферации кератиноцитов и эпителиоцитов [12, 17].

Таким образом, учитывая:

- общность патогенетических механизмов с развитием хронического аутоиммунного воспаления;
- участие макрофагов в регуляции экспрессии ко-стимулирующих молекул и продукцию ряда цитокинов;
- межклеточные взаимодействия, контролируемые антиген-специфическую активность *T*-клеток, что определяет сценарий иммунного ответа при ГЭП и псориазе, –

целесообразно провести иммуногистохимическое исследование (ИГХИ) с моноклональными антителами *CD68*, описанных как маркер моноцитов/макрофагов. Определение количества и качества макрофагов в собственной пластинке СО двенадцатиперстной кишки (ДПК) и псориатической бляшки является актуальным в понимании морфологии и патогенеза в зависимости от стадии ГЭП.

Цель работы – определение локализации и уровня *CD68+* макрофагов в коже и СО ДПК у больных псориазом и глютеневой энтеропатией.

Материалы и методы исследования. Обследовано 36 больных псориазом с индексом *PASI* от 3 до 27 баллов, у которых скрининговый анализ исследований для выявления целиакии показал положительную реакцию при определении титра антител к эндомизию (ЭМА) класс *IgA* методом непрямой флюоресценции в сыворотке крови. Концентрация ЭМА колебалась от низких (1:40) до выраженных значений (1:160). Также проведена фибродуоденоскопия с последующим взятием биоптата СО ДПК для верификации диагноза.

Материал для исследования – биоптаты кожи и СО ДПК. Каждый пациент получал подробную информацию о проводимом исследовании и давал информированное согласие на участие в исследовании. Диагностика и лечение больных псориазом проводилась в соответствии протоколу, утвержденному приказом МОЗ Украины от 8 мая 2009 г. № 312.

Морфологическое исследование проводилось по стандартным методикам с окраской гематоксилином и эозином [8]. ИГХИ проводилось

на серийных парафиновых срезах в соответствии со стандартными протоколами [10], с использованием моноклональных антител *CD68* (*Clone PG-M1*, разведение 1:50) и системы визуализации *EnVision™ FLEX+*, *Mouse, High pH (Link)*, *Code K8012* на автостейнере фирмы *DAKO*. В месте локализации антигена визуализировалась цитоплазматическая реакция коричневого цвета.

Морфометрическое исследование включало подсчет позитивных клеток в трёх полях зрения при увеличении 200; полученные данные пересчитывали на 1 мм² среза. Просмотр и цифровые фотографии микропрепаратов осуществляли цифровой камерой *OLYMPUS C 5050Z*, установленной на микроскопе «*Olympus CX-41*».

Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке для параметрических и непараметрических критериев с использованием программы «*MedStat*» (серийный № *MS0011*) ДНПП ООО «Альфа», г. Донецк. При анализе проверки распределения на нормальность использовали:

- χ^2 -критерий и *W*-критерий Шапиро–Уилкса;
- сравнение центральных тенденций двух независимых выборок с использованием *W*-критерия Вилкоксона;
- сравнение средних двух независимых выборок по критерию Стьюдента.

Для множественного сравнения непараметрических данных использовали ранговый однофакторный анализ Крускала–Уоллиса и критерий Дана [5].

Результаты и их обсуждение. Результаты гистологического исследования препаратов кожи и СО ДПК позволили выделить три группы больных псориазом, ассоциированных с различными формами ГЭП, соответствующих классификации *Marsh* [19]:

- 1 группа – инфильтративная стадия;
- 2 группа – гиперпластическая стадия;
- 3 группа – атрофическая стадия.

Во всех препаратах обнаружены признаки хронического дуоденита слабой активности с наличием межэпителиальных лимфоцитов и сохранением структуры ворсин ($n = 17$); в 12 случаях отмечалась пролиферация энтероцитов крипт; в 7 случаях – атрофия ворсин с наличием выраженной лимфоидной инфильтрации в собственной пластинке СО ДПК и межэпителиальной зоне и строме.

С целью выявления количества и качества клеток макрофагальной генерации, являющихся одними из главных клеточных компонентов, уча-

ствующих в развитии аутоиммунного воспаления, проведено ИГХИ с моноклональными антителами CD68, локализующихся в цитоплазме макрофагов.

Экспрессия CD68+ макрофагов обнаруживалась преимущественно в строме ворсинок и на границе с собственной пластинкой СО ДПК; при этом в контрольных срезах уровень экспрессии CD68+

макрофагов составил $2,1 \pm 0,54$. В зависимости от стадии ГЭП (Табл. 1), уровень экспрессии достоверно ($p < 0,01$) изменялся в сторону увеличения:

- при инфильтративной стадии обнаруживали $12,24 \pm 11,19$ клеток;
- при гиперпластической стадии – $19,12 \pm 11,28$;
- при атрофической стадии – $25,14 \pm 12,56$ клеток.

Таблица 1-Уровень экспрессии CD68+ макрофагов в слизистой ДПК и коже у больных псориазом, ассоциированным с ГЭП ($M \pm m$)

Группы	Норма ($n = 10$)		Стадии ГЭП					
			Инфильтративная ($n = 17$)		Гиперпластическая ($n = 12$)		Атрофическая ($n = 7$)	
Локализация	МЭЛ	Строма	МЭЛ	Строма	МЭЛ	Строма	МЭЛ	Строма
СО ДПК	0	$2,1 \pm 0,54$	$1,2 \pm 1,02$	$12,24 \pm 11,19^*$	$2,4 \pm 2,34$	$19,12 \pm 11,28^*$	$2,9 \pm 2,14$	$25,14 \pm 12,56^*$
Кожа	0	$10,20 \pm 0,48$	0	$13,71 \pm 1,01^*$	0	$21,16 \pm 7,38^*$	$2,4 \pm 2,46$	$27,68 \pm 11,59^*$

Примечание: * – достоверность отличия значений групп от контроля ($p < 0,01$).

Следует отметить наличие единичных межэпителиальных макрофагов, которые достоверно не отличались ($p > 0,01$) в зависимости от стадии ГЭП:

- при инфильтративной стадии отмечалось $1,2 \pm 1,02$ клеток;
- при гиперпластической стадии – $2,4 \pm 2,34$;
- при атрофической стадии – $2,9 \pm 2,14$ клеток.

Результаты исследования гистологических препаратов из прогрессирующей псориагической бляшки у больных с ГЭП показали классическую морфологическую картину с наличием лимфоцитарной инфильтрации в дерме, пара- и гиперкератоз, акантоз эпидермиса и базально-клеточную пролиферацию эпидермоцитов, иногда – абсцессы Мунро [2].

При ИГХИ в контрольных срезах здоро-

вой кожи экспрессия CD68+ макрофагов наблюдалась в верхнем слое дермы и составила $10,20 \pm 0,48$ клеток.

В дермальном воспалительном инфильтрате во всех стадиях ГЭП отмечалось достоверное ($p < 0,01$) увеличение уровня экспрессии CD68+ макрофагов по отношению к контролю (Табл. 1):

- в инфильтративной стадии – $13,71 \pm 1,01$;
- в гиперпластической стадии – $21,16 \pm 7,38$;
- в атрофической стадии – $27,68 \pm 11,59$.

Во всех группах, вне зависимости от стадии ГЭП, макрофаги фиксировались в зоне абсцесса Мунро. Обращает внимание появление межэпителиальных макрофагов только в атрофической стадии, что составило $2,4 \pm 2,46$ позитивных CD68+ клеток (Рис. 1).

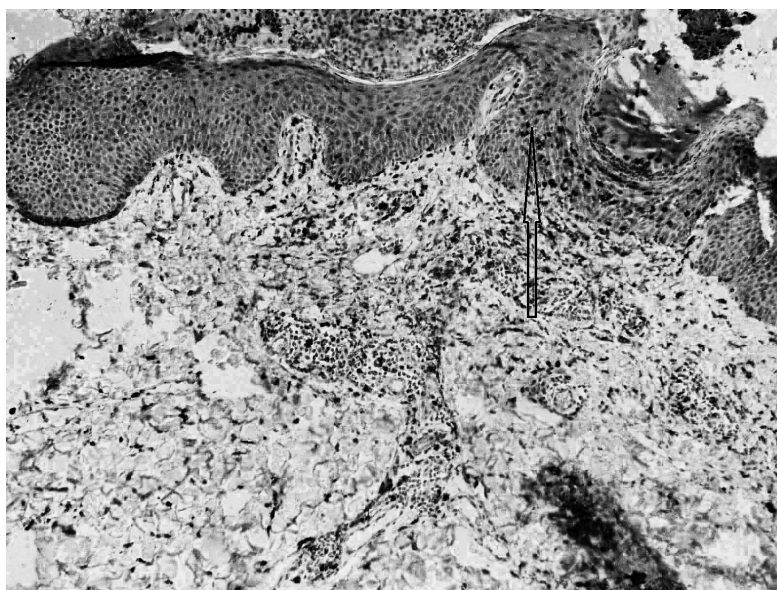


Рисунок 1. Фрагмент кожи. Атрофическая стадия ГЭП больного псориазом. Экспрессия CD68+ макрофагов, локализующихся в дерме и межэпидермальной области (стрелки). ИГХИ. Система визуализации FLEX. $\times 40$.

Таким образом, количество макрофагов в собственной пластинке СО ДПК и дерме при псориазе, ассоциированном с ГЭП, увеличивается в зависимости от стадии ГЭП; наиболее высокие показатели отмечаются в атрофическую стадию. Кроме того, в атрофическую стадию появляются межэпидермальные макрофаги, тогда как при инфильтративной и гиперпластической стадии

таковые отсутствуют. По нашему мнению, увеличение количества макрофагов в строме и дерме, а также наличие межэпидермальных макрофагов свидетельствует о значимой роли повышенной секреции определенных цитокинов, что существенно дополняет ее патогенез и обеспечивает степень выраженности клинических проявлений.

Выводы

1. Увеличение количества CD68+ макрофагов в воспалительном инфильтрате слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и коже является важным в понимании патогенеза аутоиммунного процесса при псориазе, ассоциированном с глютеновой энтеропатией.

2. Наличие межэпидермальных CD68+ макрофагов в атрофическую стадию глютеновой энтеропатии свидетельствует о персистенции иммунного воспаления в коже больных псориазом и тяжести заболевания.

Перспективы дальнейшего развития

С учетом полученных данных о количестве и локализации CD68+ макрофагов в коже и ДПК у больных псориазом с глютеновой энтеропатией необходимо изучить локализацию и количество

CD8+ и CD4+ T-лимфоцитов в воспалительном инфильтрате, определить иммунорегуляторный индекс и их взаимосвязь с макрофагальным компонентом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Донцова О. В. Целиакия и дерматологические проявления: патологические процессы кожи – ключ к диагнозу «глютенчувствительная энтеропатия» / О. В. Донцова // *Consilium medicum Ukraina*. – 2013. – Т. 7, № 6. – С. 3-5
2. Катунина О. Р. Иммуноморфологическая характеристика клеток воспалительного инфильтрата при псориазе / О. Р. Катунина // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2005. – № 2. – С. 25-28.
3. Килесса А. В. Комплексная морфологическая диагностика глютеновой энтеропатии : Дис. ... канд. мед. наук / А. В. Килесса. – Симферополь, 2012. – 167 с.
4. Коляденко К. В. Псориаз. Нові можливості виправдати надії / К. В. Коляденко // *Український журнал дерматології, венерології та косметології*. – 2007. – № 4. – С. 101.
5. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. - К.: Морион, 2000. – 319 с.
6. Новиков А. И. Состояние популяции мононуклеарных фагоцитов (CD68) в псориазической папуле под влиянием Тимодепрессина / А. И. Новиков, В. А. Охлопков, Р. В. Гордилов и др. // *Клиническая дерматология и венерология*. – 2006. – № 3. – С. 30-32.
7. Парфенов А. И. Целиакия. Эволюция представлений о распространенности, клинических проявлениях и значимости этиотропной терапии / А. И. Парфенов. - М.: Анахарсис, 2007. – 372 с.
8. Сапожников А. Г. Гистологическая и микроскопическая техника: Руковод. / А. Г. Сапожников, А. Е. Дорошевич. - Смоленск: САУ, 2000. – 476 с.
9. Admou B. Atypical celiac disease: from recognizing to managing / B. Admou, L. Essaadouni, K. Krati *et al* // *Gastroenterol. Res. Pract.* – 2012. –No 63. – P. 71-87.
10. Abenavoli L. Celiac disease and skin: psoriasis association / L. Abenavoli, L. Leggio, G. Gasbarrini *et al* // *World J. Gastroenterol.* –2007. – No 13. – P. 2138-2139.
11. Birkenfeld S. Coeliac disease associated with psoriasis / S. Birkenfeld, J. Dreiherr, D. Weitzman *et al* // *Br. J. Dermatol.* – 2009. – No 161. – P. 1331-1334.
12. Bos J. D. Immunocompetent cells in psoriasis. In situ immunophenotyping by monoclonal antibodies / J. D. Bos, H. J. Hulsebosch, S. R. Krieg *et al* // *Arch. Dermatol. Res.* – 1983. – Vol. 275. – P. 181-189.
13. *Celiac Disease: WGO-OMGE Practice Guideline* // *World Gastroenterology Organization*. – 2005 [Электронный ресурс – способ доступа: <http://www.omge.org/globalguidelines/guide13/guideline13.htm>].
14. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry / Dabbs D. J. – L.: Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
15. *Damasiewicz-Bodzek A.* Serological markers of

- celiac disease in psoriatic patients / A. Damasiewicz-Bodzek, T. Wielkosszynski // Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2008. – Vol. 22, No 9. – P. 1055-1061.
16. Čabrijan Leo. Growth CD4 and CD8 lymphocytes and macrophages in psoriasis / Leo Čabrijan, Jasna Lipozenčić, Tanja Batinac *et al* // Acta Dermatovenereology. – 2009. – Vol. 17, No 3. – P. 162-165.
17. Ludvigsson J. F. Psoriasis in a nationwide cohort study of patients with celiac disease / J. F. Ludvigsson, B. Lindelöf, F. Zingone *et al* // J. Invest. Dermatol. – 2011. – Vol 131, No 10. – P. 2010-2016.
18. Lionetti E. New clues in celiac disease epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, and treatment / E. Lionetti, C. Catassi // Int. Rev. Immunol. – 2011. – Vol. 30, No 4. – P. 219-321.
19. Marsh M. N. Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity / M. N. Marsh, P. T. Crowe // Baillieres Clin. Gastroenterol. – 1995. – Vol. 9, No 2. – P. 273-293.
20. Sapone A. Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification / A. Sapone, J. C. Bai, C. Ciacci *et al* // BMC Med. – 2012. – No 7. – P. 10-13.

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ CD68+ МАКРОФАГІВ У ШКІРІ ТА СЛИЗОВІЙ 12-ПАЛОЇ КИШКИ У ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ, АСОЦІЙОВАНИЙ З ГЛЮТЕНОВОЮ ЕНТЕРОПАТІЄЮ

Яссер Халед Абдель Карім Масадех

Державна установа «Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгіївського»

Обстежено 36 хворих на псоріаз з індексом PASI від 3 до 27 балів, у яких була позитивна реакція при визначенні титру антитіл до ендомізію (ЕМА) клас IgA. При ендоскопічному і гістологічному аналізі слизової дванадцятипалої кишки (ДПК) виділено три групи хворих на псоріаз та целіакію в залежності від стадії целіакії: 1 група ($n = 17$) – інфільтративна стадія; 2 група ($n = 12$) – гіперпластична стадія; 3 група ($n = 7$) – атрофічна стадія. Збільшення кількості CD68+ макрофагів у запальному інфільтраті слизової ДПК і шкірі в залежності від стадії є важливим моментом у розумінні патогенезу аутоімунного процесу при псоріазі, асоційованому з глютенною ентеропатією (ГЕП). Наявність міжепідермальних CD68+ макрофагів у атрофічній стадії є гістологічною особливістю псоріатичного ураження шкіри у хворих з ГЕП.

Ключові слова: псоріаз, целіакія, макрофаги, імуногістохімія

THE PECULIARITIES OF THE CD68+ MACROPHAGES EXPRESSION IN THE SKIN AND DUODENUM MUCOUS MEMBRANE OF PATIENTS WITH PSORIASIS ASSOCIATED WITH GLUTEN ENTEROPATHY

Yasser Khaled Abdel Karim Masadeh

“S. I. Georgievski Crimean State Medical University” SI

36 patients with psoriasis revealing the PASI-index from 3 to 27 marks and a positive reaction at determination of dilution of antibodies to endomysium (EMA) class of IGA have been examined. Given the endoscopic and histological analysis of the duodenum mucous membrane (DMM), 3 groups of patients with psoriasis and celiac disease have been selected versus the stage of celiac disease: 1st group ($n = 17$) – the infiltrative stage; 2nd group ($n = 12$) – the hyperplastic stage; 3rd group ($n = 7$) – the atrophy stage. Increase of the CD68+ macrophages amount in inflammatory infiltration of the DMM and skin versus the stage is an important moment in understanding the autoimmune process pathogeny under psoriasis associated with gluten enteropathy (GEP). Presence of interepidermal CD68+ macrophages in the atrophy stage is the histological feature of the psoriasis skin-lesion at patients with GEP.

Keywords: psoriasis, celiac disease, macrophage, immunohistochemistry

Яссер Халед Абдель Карім Масадех – аспирант кафедри кожних и венерических болезней, Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского».