

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОГО ХОЛЕСТЕРОЛА В ЭПИДЕРМИСЕ ПРИ ПСОРИАЗЕ

ЗЫКОВА О.С.\*, СОБОЛЕВСКАЯ И.С.\*\*\*, МЯДЕЛЕЦ О.Д.\*\*\*, ГРУШИН В.Н.\*\*

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра дерматовенерологии,\*  
кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии\*\*\**

**Резюме.** Настоящая статья посвящена изучению особенностей распределения свободного холестерина в пораженной коже при псориазе с помощью флуоресцентной микроскопии.

Изучены гистологические препараты доноров дерматологически здоровой кожи (n=15) и стационарных пациентов с распространенным псориазом (n=13).

Проведенные исследования продемонстрировали значительные нарушения отложения свободного холестерина в эпидермисе псориатической бляшки по сравнению с таковым у дерматологически здоровых лиц из группы контроля, а также выявили особенности его распределения в зависимости от стажа заболевания по следующим критериям: интенсивность свечения (полуколичественный метод), локализация свободного холестерина в эпидермисе, оценка свечения по цвету, характер отложений холестерина.

**Ключевые слова:** *кожа, эпидермис, свободный холестерол, псориаз.*

**Abstract.** The present article is devoted to the studying of the peculiarities of free cholesterol allocation in the damaged skin in psoriasis by means of fluorescent microscopy.

Histological slides of healthy skin donors (n=15) and in-patients with generalized psoriasis (n=13) have been studied.

The conducted researches have shown significant differences in the deposition of free cholesterol in the psoriatic plaque epiderm in comparison with that in dermatologically healthy donors from the control group, and also have revealed the peculiarities of its allocation depending on the disease duration by the following criteria: intensity of luminescence (a semi-quantitative method), localization of free epidermal cholesterol, luminescence assessment based on color, character of cholesterol depositions.

**П**сориаз – это хронический рецидивирующий мультифакторный папуло-сквамозный дерматоз с наследственной предрасположенностью, распространённость которого в популяции может составлять 1-3% [1, 2].

*Адрес для корреспонденции:* 210015, г. Витебск, ул. Б.Хмельницкого, д. 2, кв. 20. Тел. моб.: +375 (29) 177-24-49 – Зыкова О.С.

В настоящее время псориаз считается системным аутоиммунным заболеванием. Согласно результатам фундаментальных исследований, системность псориаза проявляется поражением кожи, опорно-двигательного аппарата, заболеваний внутренних органов, ассоциированных с иммунным воспалением или с метаболическими нарушениями (метаболический синдром) [1, 2, 3, 4].

Определенное значение в патогенезе и развитии заболевания придают обмену холестерина в организме больного. Актуальной проблемой является коморбидность псориаза и сердечно-сосудистых заболеваний – артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца.

Проведен ряд исследований, которые показали, что в пораженной коже также имеют место нарушения обмена холестерина [2, 5, 6].

Целью исследования было изучение особенностей распределения свободного холестерина эпидермиса у больных псориазом.

### Методы

Выполнено клиническое и патоморфологическое обследование 13 информированных стационарных пациентов-добровольцев (12 мужчин и 1 женщина) с распространенным псориазом в возрасте от 24 до 61 года. Клинические формы поражения кожи были представлены обыкновенной (в 6 случаях), экссудативной (в 6 случаях) и эритродермической (1 случай), в том числе в сочетании с себорейной у 2 пациентов с вульгарной клинической формой. У 9 пациентов установлена прогрессирующая стадия псориаза, у 4 – стационарная. Стаж псориазического поражения кожи у пациентов обследованной группы составил от 4 до 30 лет, в том числе у 4 пациентов – до 5 лет включительно, у 9 – более 5 лет, из них у 8 – 10 и более лет. Биопсия производилась в центре очага поражения кожи на спине под местной анестезией 2%-ным раствором лидокаина.

В качестве контроля использовалась кожа от 15 трупов людей в возрасте от 35 до 60 лет, обоюбого пола, не имевших признаков каких-либо кожных заболеваний. Вскрытие проводили в 1-2-е сутки после смерти в морге Управления по Витебской области Государственной службы медицинских судебных экспертиз. Все стандартные требования к получению биопсийного материала были соблюдены.

Образцы кожи фиксировали в растворе кальций-формол и готовили криостатные срезы. Для обнаружения и количественного определения свободного холестерина эпидермиса использовали флуорохромирование с использованием филипинного комплекса. Пре-

параты изучали при помощи флуоресцентного микроскопа с ультрафиолетовым светофильтром при длине волны 330-385 нм.

Свободный холестерол, содержащийся в эпидермисе, выявляется в виде серебристо-голубого свечения. Интенсивность свечения оценивали полуколичественно, по 5-балльной системе: 0 – отсутствие свечения, 1- очень слабое свечение, 2 – низкая степень свечения, 3 – умеренное свечение, 4 – высокая степень свечения.

При окраске филипинным комплексом подсчитывали размеры глыбок свободного холестерина в 25 полях зрения при увеличении микроскопа 400х. После этого высчитывали средний показатель, приходящийся на одно поле зрения микроскопа.

При анализе данных использовали следующие критерии:

1. Интенсивность свечения (полуколичественный метод);
2. Локализация свободного холестерина в эпидермисе;
3. Оценка свечения по цвету (серебристое, голубое и т.д.);
4. Характер отложений холестерина (глыбками, диффузно, рыхло, плотно, однородно и т.д.).

Оценку морфологических признаков проводили на светооптическом уровне при увеличении  $\times 100$ ,  $\times 200$ ,  $\times 400$ ,  $\times 630$  и  $\times 1000$ . Цифровые данные получали с помощью прикладной морфометрической программы Leica «LAS V3.6».

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью прикладных программ MS Excel 2007 и Statistica 6.0. Оценку вида распределения изучаемых признаков проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка, Колмагорова-Смирнова и Лиллиефорса. При сравнении количественных и качественных признаков в двух группах использовали критерий U Вилконсона-Манна-Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости менее 0,05 ( $p < 0,05$ ). Рассчитывались средняя (M), медиана (Me), размах (Min?Max), межквартильный интервал (25-й и 75-й проценты), а также 95% доверительный интервал (ДИ) для медианы и средней. Результаты отображали в виде средней и ДИ [7].

## Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что в контрольной группе людей свободный холестерин чаще выявлялся как составной компонент клеточной оболочки клеток зернистого, шиповатого и базального слоев в виде однородного равномерного свечения яркого серебристо-голубого цвета (рис. 1). Свечение имело четкие контуры в виде хорошо заметного ободка вокруг клетки. Благодаря этому четко прослеживались форма и размеры клеток, а также хорошо определяется разница по форме и размерам клеток между слоями. Цитоплазма кератиноцитов окрашивалась в темный серебристо-синий цвет, ядра не окрашивались и соответствовали фоновой окраске среза нефлуоресцирующих структур (темно-серого, черного цвета). Интенсивность свечения холестерина оболочки клеток составляет 2,60 балла (95% ДИ 2,30-2,90).

Особенным образом свободный холестерин выявляется в роговом слое. Его количество заметно возросло и составило 2,83 балла (95% ДИ 2,61-3,06). Изменился характер его отложений: в отличие от предыдущих слоев холестерин здесь выявлялся в виде диффузных плотных неоформленных масс серебристо-голубого цвета, расположенных в межклеточном пространстве. При этом диффузное неоформленное скопление его между клетками не по-

зволяло рассмотреть границы. Создавалось впечатление массивного, почти однородного бесклеточного слоя. Окраска холестерина верхних и нижних клеточных слоев рогового слоя существенно отличалась. В нижних слоях, ближе к зернистому слою, холестерин давал в основном однородное серебристо-голубое свечение (2,53 балла (95% ДИ 2,21-2,83)), тогда как в поверхностных слоях окраска была неоднородная: в большем количестве преобладали участки, не содержащие холестерин и в меньшем количестве присутствуют зоны с характерным, но слабым по интенсивности свечением (1,91 балла (95% ДИ 1,63-2,19)) (рис. 2).

При изучении гистологических препаратов установлено, что морфология распределения холестерина различается у больных с различным стажем псориаза.

У пациентов со стажем псориаза не более 5 лет (первый морфологический вариант) в зоне псориатической бляшки характер распределения свободного холестерина существенно отличался от нормы (рис. 3). Он по-прежнему выявлялся в составе плазмолеммы в виде светящегося ободка серебристо-голубого цвета вокруг клеток. Однако интенсивность его свечения достоверно ( $p < 0,05$ ) снижалась до 2,22 балла (95% ДИ 1,97-2,47). По этой причине граница между клетками выявлялась не так четко, как в норме, а в некоторых случаях была даже стёрта.

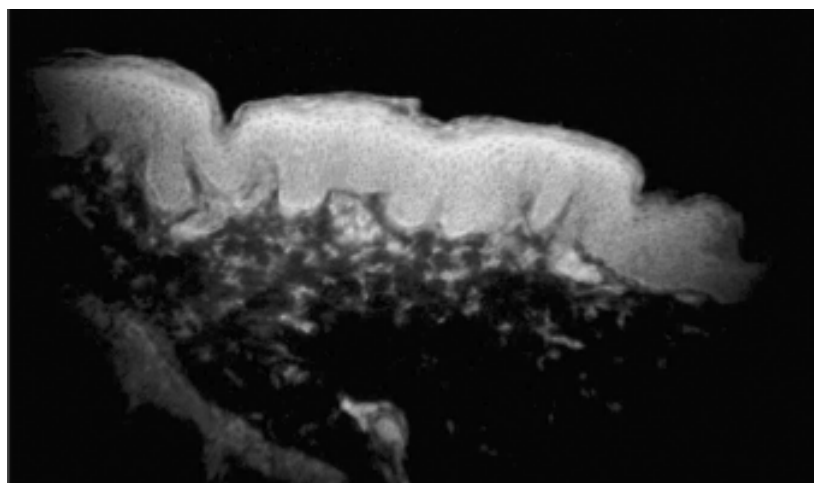


Рис. 1. Свободный холестерин в эпидермисе кожи людей, погибших от причин, не связанных с заболеваниями кожного покрова. Окраска на свободный холестерин. Увел.: об. x20, ок. x10.

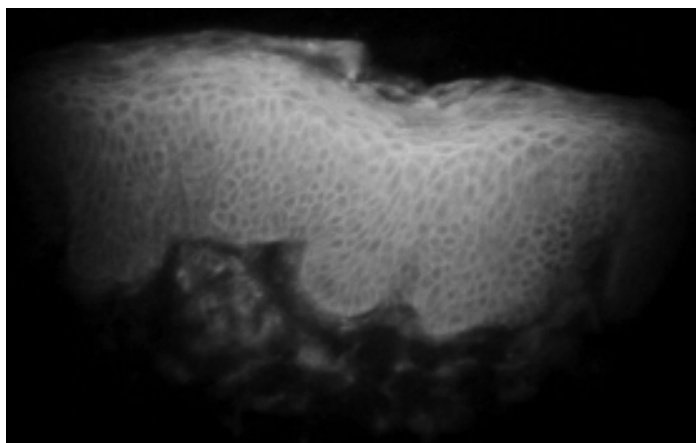


Рис. 2. Свободный холестерин в роговом слое эпидермиса (серебристо-голубое свечение). Окраска на свободный холестерин. Увел.: об. x40, ок. x10.

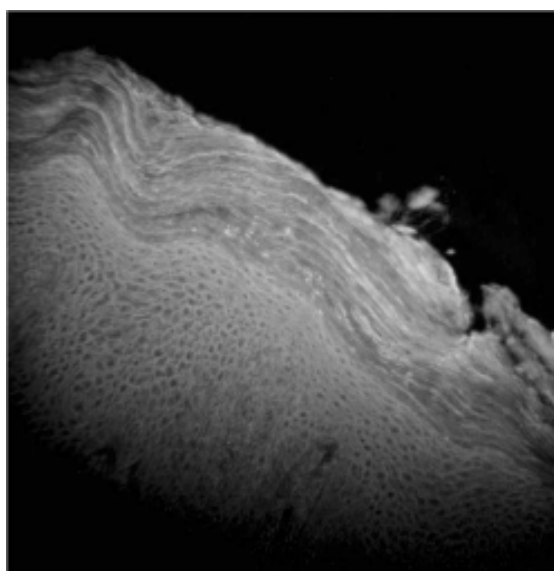


Рис. 3. Характер распределения свободного холестерина в эпидермисе при первом морфологическом варианте: увеличение содержания холестерина в роговом слое эпидермиса. Окраска на свободный холестерин. Увел.: об. x20, ок. x10.

В роговом слое также нарушался характер отложения холестерина. В нижних слоях рогового слоя он откладывался в виде одиночных оформленных гранул, преимущественно округлой формы, ярко серебристого цвета, расположенных на расстоянии друг от друга, диаметром 4,04 мкм (95% ДИ 3,57-4,51). В одних участках гранулы выявлялись в большем количестве, скученно, а в других они встречались редко или полностью отсутствовали. В верхних слоях рогового слоя характер распределения холестерина был иной. Он выявлялся между клеточными слоями корнеоцитов в виде тонких светло-се-

ребристых длинных полосок. Следует отметить, что в поверхностных слоях рогового слоя холестерол располагался неравномерно: в одних зонах отмечалось большое количество широких светло-серебристых полос флуоресцирующего холестерола, а в других – лишь в виде одиночных тонких длинных светящихся прослоек между клетками. Участки, свободные от холестерола, не флуоресцировали, имели темно-серый цвет и мало отличались от фоновой нефлуоресцирующей окраски среза. Интенсивность свечения холестерола рогового слоя псориатической бляшки была достоверно выше, чем в нормаль-

ной коже ( $p < 0,01$ ), и составляла 3,60 балла (95% ДИ 3,29-3,91) (рис. 4).

У пациентов со стажем псориаза более 10 лет по характеру свечения в базальном, шиповатом и зернистом слоях сохранялись вышеописанные тенденции. В то же время, наиболее существенные изменения в отношении степени и характера отложений свободного холестерина отмечались в роговом слое (второй морфологический вариант) (рис. 5).

В нижних слоях рогового слоя выявлялось большое количество хорошо оформленных по-

лиморфных, разной величины и интенсивности свечения гранул холестерина. Диаметр гранул составлял 7,79 мкм (95% ДИ 6,84-8,76), что достоверно больше, чем в коже при первом варианте ( $p < 0,0001$ ). Гранулы располагались группами по 7-11 единиц, а в некоторых случаях – беспорядочно и одиночно. Значительно изменялся по сравнению с нормой и первым вариантом псориаза характер отложения холестерина в верхних слоях рогового слоя. Здесь отмечалось разлитое, почти однородное его свечение от серебристо-голубого до светло-сереб-

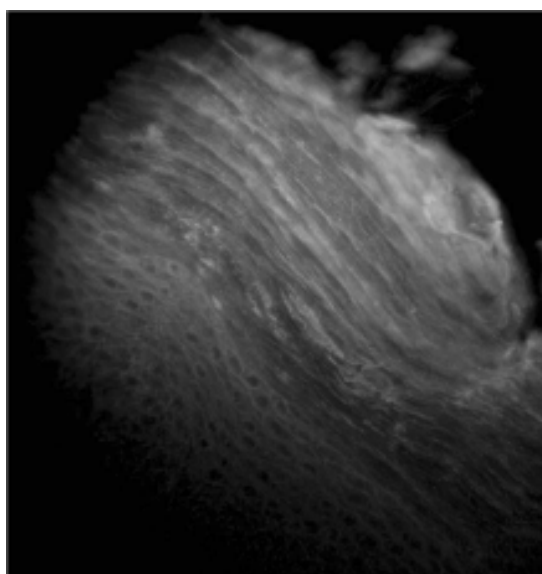


Рис. 4. Серебристо-голубые полоски свободного холестерина между роговыми чешуйками эпидермиса. Окраска на свободный холестерин. Увел.: об. x40, ок. x10.

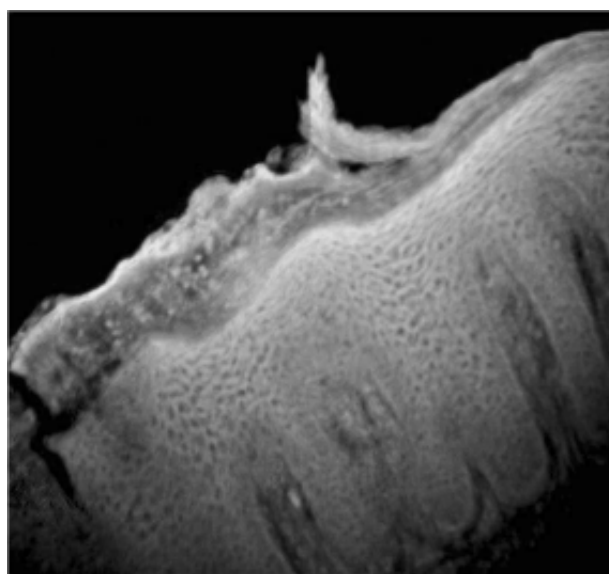


Рис. 5. Распределение свободного холестерина в роговом слое эпидермиса при втором морфологическом варианте. Окраска на свободный холестерин. Увел.: об. x20, ок. x10.

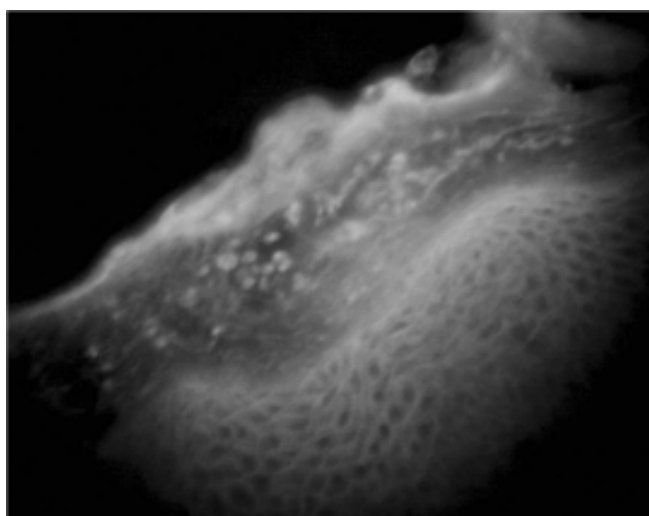


Рис. 6. Скопление глыбок холестерина в нижних участках и его масса в поверхностный зонах рогового слоя. Окраска на свободный холестерин. Увел.: об. x40, ок. x10.

ристого цвета. Холестерол формировал поверхностную массу значительной толщины с преимущественной локализацией в центральной части бляшки. Интенсивность свечения этой области была максимальной и составляла 3,83 балла (95% ДИ 3,59-4,08) (рис. 6).

### Заключение

Таким образом, флуоресцентная микроскопия позволяет детализировать нарушения липидного обмена в коже больных псориазом на клеточном и тканевом уровнях, что существенно дополняет биохимические исследования и позволяет расширить представления об этиологии и патогенезе данного заболевания. Проведенное исследование позволило установить значительные нарушения отложения свободного холестерина в эпидермисе псориазической бляшки пациентов с псориазом по сравнению с таковым у дерматологически здоровых лиц из группы контроля, а также особенности его распределения в зависимости от стажа заболевания.

У пациентов со стажем псориаза не более 5 лет отличие распределения свободного холестерина в псориазической бляшке по сравнению с контролем заключается в том, что границы между клетками шиповатого и зернистого слоев эпидермиса выявляются менее четко, а в некоторых случаях даже были стерты. Холестерол поверхностных слоев рогового слоя располагается неравномерно: в одних зонах он концентрируется в виде большого количества широких светло-серебристых флуоресцирующих полос, а в других – лишь в виде одиночных тонких длинных светящихся прослоек между клетками. Интенсивность свечения холестерина рогового слоя псориазической бляшки достоверно выше по сравнению с нормальной кожей ( $p < 0,01$ ), что может указывать на нарушение процессов терминальной дифференцировки кератиноцитов.

В препаратах от пациентов со стажем псориазе более 5 лет в нижних слоях рогового слоя выявляется большое количество хорошо оформленных полиморфных, достоверно большей величины и интенсивности свечения гранул холестерина, чем в коже при пер-

вом варианте ( $p < 0,0001$ ). Выявлены особенности взаиморасположения гранул, которые образуют группы по 7-11 единиц. По сравнению с контролем и первым морфологическим вариантом значительно изменяется отложение холестерина в верхних слоях рогового слоя, где выявляется разлитое, почти однородное его свечение. В результате формировалась поверхностная полоса значительной толщины и интенсивности свечения с максимумом последнего в центральной части бляшки.

Таким образом, установленные особенности распределения свободного холестерина в эпидермисе пациентов с различным стажем псориазического поражения кожи согласуются с «иммунолипидной» концепцией патогенеза псориаза, которая указывает на тесную взаимосвязь липидтранспортной и иммунной систем в механизме развития этого заболевания, так как холестерол оказывает иммуномодулирующее действие, ведущее к иммунологическому дисбалансу [3].

### Литература

1. Christofers, E. Comorbidities in psoriasis / E. Christofers // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. – 2006. – Vol.20(s2). – P.52-55.
2. Козин, В.М. Псориаз (Вопросы патогенеза, клиники, терапии): монография / В.М.Козин. – Витебск: ВГМУ, 2007. – 227с.
3. Boehncke, W-H. Managing co morbid disease in patients with psoriasis / W-H. Boehncke [et al.] // BMJ. – 2010. – Vol. 340. – P.200-203.
4. Gisondi, P. Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis / P. Gisondi, G. Tessari, A. Conti // Br. J. Dermatol. – 2007. – Vol.157. – P.68-73.
5. Повалий, Т.М. Количественный анализ холестерина мембран кератиноцитов эпидермиса при псориазе / Т.М. Повалий [и др.] // Вестн. дерматологии и венерологии. – 1997. - №1. – С.4-6.
6. Марголина, А. А. Жир в косметике и здоровье кожи / А. А. Марголина, Е. И. Эрнандес // Косметика и медицина. – 1998. - № 1. – С. 29-37.
7. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. - Москва: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

Поступила 29.02.2012 г.

Принята в печать 02.03.2012 г.