

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 616.5

Ю.В. КЕНИКСФЕСТ, Н.В. КУНГУРОВ, М.М. КОХАН, С.В. САЗОНОВУральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии
Уральская государственная медицинская академия

Атопический дерматит: иммуноморфологические особенности кожи у больных с различными вариантами клинического течения

Кениксфест Юлия Владимировна

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник

620076, г. Екатеринбург, ул. Щербакова, д. 8. тел. (343) 218-95-61

e-mail: keniksfest@mail.ru

Проведено иммунофенотипирование клеток кожного инфильтрата в биопсированной коже участка манифестаций у 21 взрослого пациента с атопическим дерматитом с использованием проточной цитометрии и моноклональных антител. Получены новые данные о морфологическом субстрате воспалительного клеточного инфильтрата, выявлены различия иммуноморфологического состава и функциональных характеристик дермальных лимфоцитов при различных вариантах течения.

Ключевые слова: атопический дерматит, кожа, иммуноморфологические особенности.

Y.V. KENIKSFEST, N.V. KUNGUROV, M.M. KOKHAN, S.V. SAZONOV

Atopic dermatitis: immunomorphological features of a leather skin at patients with various variants of clinical current

Immunophenotyping cells of skin infiltrate derived by biopsy site of manifestation at 21 adult patients with atopic dermatitis using flowing cytometry and monoclonal antibodies was carried. New data about a morphological substratum inflammatory cellular infiltrate are obtained, distinctions immunomorphological structure and functional characteristics dermal lymphocytes at various variants of current are revealed.

Keywords: atopic dermatitis, skin, immunomorphological features.

Введение

Атопический дерматит (АД) остается важной медико-социальной проблемой, значимость которой определяется неуклонным ростом заболеваемости, его хроническим, рецидивирующим течением и сложностью в проведении терапии [1]. Исследователи отмечают многообразие клинических форм АД, при этом подчеркивают эволютивное возрастное развитие заболевания от эритематозных, везикулезно-крустозных в раннем возрасте к лихеноидным в старшие возрастные периоды [2, 3, 4]. Подчеркивая, таким образом, хронический

характер течения АД, авторы ограничиваются констатацией состояния пациента на текущий момент, без сопоставления с предыдущими эпизодами обострений и без попыток прогноза течения процесса в дальнейшем. В работах Н.В. Кунгурова и соавторов (1998, 1999, 2000) установлены закономерности течения АД и наличие у большинства больных тенденции к преобладающему и повторяющемуся характеру клинических манифестаций процесса от обострения к обострению [5]. В результате длительного клинико-лабораторного мониторинга у большинства больных АД были установлены тенденции



Таблица 1.

Состав клеточного инфильтрата кожи у больных с различными типами течения АД (%, абс. кол-во клеток)

		CD3+	CD4+	CD8+	CD19+	CD15+	CD1a+
ГВТ n=8	%	64,06±5,4	45,85±6,9	14,57±4,9	15,43±2,2	3,27±0,6	8,1±1,1
	Абс.	292,4±61,0	132,1±21,8	65,3±10,4	69,8±6,1	16,3±1,9	35,4±4,1
ИВТ n=5	%	44,71±4,8	23,67±6,3	36,6±2,4	7,43±1,4	11,5±1,6	4,63±2,2
	Абс.	127,2±54,2	80,9±15,0	105,9±12,8	20,3±3,0	33,7±6,6	13,0±1,7
ПВТ n=8	%	68,63±6,7	51,6±4,8	19,1±3,5	8,5±1,7	2,6±0,5	5,13±0,9
	Абс.	336,7±43,9	276,2±41,0	99,1±9,6	45,3±7,2	13,1±1,8	25,7±1,9
p^*		p_1, p_3	p_1, p_2, p_3	p_1, p_3	p_1, p_2, p_3	p_1, p_3	p_1, p_2, p_3

p^* - значение $p < 0,05$, где p_1 – при сравнении показателей ГВТ и ИВТ;

p_2 - при сравнении показателей ГВТ и ПВТ; p_3 - при сравнении ИВТ и ПВТ.

Таблица 2.

Соотношение клеточных популяций (абс.) в коже больных с различными типами течения атопического дерматита

	CD19+/CD3+	CD4+/CD8+	CD15+/CD3+	CD1a+/CD3+	CD1a+/CD4+
ГВТ	0,24±0,05	2,03±0,25	0,06±0,01	0,12±0,01	0,27±0,05
ИВТ	0,17±0,01	0,76±0,1	0,26±0,06	0,1±0,02	0,16±0,02
ПВТ	0,12±0,03	2,79±0,18	0,04±0,01	0,07±0,01	0,09±0,01
p^*	p_2	p_1, p_2, p_3	p_1, p_3	p_2	p_2, p_3

p^* - значение $p < 0,05$, где p_1 – при сравнении показателей ГВТ и ИВТ;

p_2 - при сравнении показателей ГВТ и ПВТ; p_3 - при сравнении ИВТ и ПВТ.

Таблица 3.

Детекция функциональных рецепторов клеток кожи

у больных с различными вариантами течения атопического дерматита

Вариант течения		TCRαβ+	TCRγδ+	CD95+	Ki 67+	RIL – 4+
ГВТ	%	20,8±3,2	13,9±2,4	0,6±0,08	7,25±1,0	11,03±2,1
	Абс.	90,5±19,2	60,6±13,1	2,7±0,9	32,1±3,9	47,9±7,8
ИВТ	%	28,5±1,9	4,6±0,9	0,23±0,04	11,93±1,6	19,88±3,4
	Абс.	80,1±7,7	12,9±2,4	1,0±0,2	33,5±3,5	55,9±6,3
ПВТ	%	40,38±5,5	8,9±1,7	0,66±0,1	20,67±3,0	26,15±4,3
	Абс.	203,5±43,6	44,8±7,1	3,4±0,9	104,1±14,5	131,8±20,2
p^* p^{**}		p^{**}_2 p^{**}_3 p_2 p_3	p^{**}_1 p^{**}_3 p_1 p_3	$p^{**}_1 p^{**}_3$ p_1 p_3	p^{**}_1 p^{**}_2 p^{**}_3 p_2 p_3	p^{**}_1 p^{**}_2 p_2 p_3

p^* - значение $p < 0,05$, где p_1 – при сравнении абсолютных показателей ГВТ и ИВТ; p_2 - при сравнении показателей ГВТ и ПВТ;

p_3 - при сравнении ИВТ и ПВТ; p^{**} - при сравнении относительных показателей.

к преобладающему и повторяющемуся характеру клинических манифестаций процесса от обострения к обострению. Данные, полученные при изучении анамнеза заболевания, особенностей клинических проявлений дерматоза и их возрастной динамики, перенесенных заболеваний, причин обострений кожного процесса, структурированные и проанализированные при помощи компьютерных технологий, позволили среди всех больных АД выделить три группы пациентов по варианту течения процесса, которые, исходя из варианта реагирования и патогенетических особенностей, условно были названы: гиперергический (у 29,5%) — ГВТ, инфекционный (у 30,5%) — ИВТ, пролиферативный (у 10,0%) — ПВТ. У части пациентов (около 30,0%) вариант течения был неуточнен, так как сочетал признаки перечисленных выше. Концептуальный подход к выделению клинико-лабораторных вариантов течения АД представлен в исследованиях Ю.В. Сергеева и соавторов (2002), установивших гетерогенность течения АД на основании различных механизмов формирования иммунного ответа [2].

Основой для понимания локального аспекта патогенеза АД является положение о развитии в коже воспаления, опосредованного в основном активированными Т-лимфоцитами хелперами/индукторами второго порядка (Th2 — лимфоциты) с участием антигенпрезентирующих клеток (клетки Лангерганса), макрофагов, эозинофилов, нейтрофилов и других иммунокомпетентных клеток [6, 7, 8].

Анализ публикаций, освещающих иммунные механизмы развития АД «in situ», показывает, что большинство авторов рассматривают и сопоставляют две возможные клинические ситуации АД — острую и хроническую его фазы [6, 7, 8, 9, 10]. В то же время остаются неизученными особенности клеточного состава, микроморфологии и иммуноморфологической характеристики лимфоцитов, формирующих дермальный инфильтрат при других клинико-морфологических формах заболевания, при различных вариантах течения АД.

Материалы и методы

С целью изучения патогенетических особенностей выявленных иммунных нарушений на локальном уровне нами впервые проведено иммунофенотипирование клеток кожного инфильтрата в нативной биопсированной коже участка манифестаций у 21 взрослого пациента с использованием проточной цитометрии и моноклональных антител: CD1a, CD3, CD4, CD8, CD19, CD15, RIL — 4, CD95, Ki67, TCRαβ, TCRγδ первично меченных FITC или PE (Dako) в одно- и двухлучевой цитометрии на FACScan (Becton Dickinson, Германия).

Результаты и обсуждение.

Результаты фенотипических исследований приведены в таблице 1. При исследовании общей клеточности инфильтрата кожи установлены максимальные значения показателя у больных с ПВТ ($503,7 \pm 74,6$ клеток), т.е. достоверно более высокая численность маркированных клеточных элементов кожи, в сравнении с ИВТ. На втором месте по числу извлеченных из гомогената кожи клеток находился ГВТ ($435,3 \pm 58,3$), где клеточность инфильтрата была также достоверно высокой, чем при ИВТ ($281,9 \pm 42,5$ клеток). Общее содержание CD3+ клеток, представляющих Т-популяцию дермальных лимфоцитов, колебалось от $44,71 \pm 4,8\%$ ($127,2 \pm 54,20$ клеток) — при ИВТ — до $68,63 \pm 6,7\%$ ($336,7 \pm 43,9$ клеток) — при ПВТ. Пролиферативный и гиперергический варианты течения дерматоза демонстрировали, таким образом, достоверно более выраженную клеточность лимфоцитарного инфильтрата, состоящего из Т-лимфоцитов.

При рассмотрении субпопуляционного состава клеточного инфильтрата в коже у больных с различными вариантами клинического течения АД выявлено, что средние значения содержания CD4+ лимфоцитов в коже значительно отличались. Так, в группе больных с ГВТ среднее содержание CD4+ лимфоцитов составило $45,85 \pm 6,9\%$ ($132,1 \pm 21,8$ клеток), у больных с ИВТ — $23,67 \pm 6,3\%$ ($80,9 \pm 15,0$ клеток), а у пациентов с ПВТ — $51,6 \pm 4,8\%$ ($276,2 \pm 41,0$ клеток). Численность CD4+ лимфоцитов, принадлежащих к субпопуляции лимфоцитов хелперов/индукторов, была достоверно более высокой у больных с ПВТ по сравнению с ИВТ и ГВТ, а в коже группы больных с ГВТ достоверно превышала таковую в группе с ИВТ дерматоза.

Относительное и абсолютное количество CD8+ лимфоцитов в коже также достоверно различалось у больных с различными вариантами течения АД, причем было максимальным в группе пациентов с ИВТ ($36,6 \pm 2,4\%$ и $105,9 \pm 12,8$ клеток), более низким у больных с ГВТ ($14,57 \pm 4,9\%$ и $65,3 \pm 10,4$ клеток) и ПВТ ($19,1 \pm 3,5\%$ и $99,1 \pm 9,6$ клеток).

Содержание CD19+ лимфоцитов, в процентном и абсолютном значении, было наиболее высоким у лиц с ГВТ ($15,43 \pm 2,2\%$ и $69,8 \pm 6,1$ клеток), превышая таковое в коже у больных с ИВТ в 2,0 раза, а у больных с ПВТ в 1,8 раза.

Исследования обнаружили также достоверные различия в абсолютном содержании CD1a+ клеток при различных вариантах течения АД. Наибольшее число CD1a+ клеток, относящихся к разряду дендритных клеток Лангерганса, было выявлено в коже больных группы ГВТ процесса ($8,1 \pm 1,1\%$ и $35,4 \pm 4,1$ клеток). На втором месте — абсолютное содержание CD1a+ клеток в коже больных с ПВТ ($5,13 \pm 0,9\%$ и $25,7 \pm 1,9$), и минимальное их количество выявлялось в коже больных с ИВТ — $4,63 \pm 2,2\%$ и $13,0 \pm 1,7$ клеток.

Относительные и абсолютные показатели содержания CD15+ клеток, идентифицируемых как гранулоциты, отличались наиболее высокими значениями в группе больных с ИВТ, составляя $11,5 \pm 1,6\%$ и $33,7 \pm 6,6$ клеток, что в 3,5 раза больше, чем в группе больных с ГВТ и в 4,4 раза больше, чем в коже у больных с ПВТ.

В коже у больных с ГВТ АД преобладали Т-лимфоциты, около половины которых составляли Т-лимфоциты хелперно/индукторной субпопуляции с умеренным представителем Т-лимфоцитов супрессоров. В составе инфильтрата достоверно в большем количестве, чем при 2 других вариантах, были представлены клетки Лангерганса и В-лимфоциты. В группе пациентов с ИВТ содержание Т-лимфоцитов было в 1,4 раза меньше, чем при ГВТ, а в субпопуляционном составе преобладали Т-лимфоциты супрессорно/цитотоксического вида. Содержание В-лимфоцитов в коже больных этой группы было незначительным; отмечалось максимальное из всех исследованных групп присутствие гранулоцитов, клеток эффекторов микробного воспаления.

Кожа больных с ПВТ характеризовалась максимальной выраженностью общего числа клеток (клеточность инфильтрации), представленных подавляющим количеством Т-лимфоцитов, половина которых относилась к субпопуляции Т-хелперов. Было отмечено умеренное представительство Т-супрессоров, клеток Лангерганса и минимальное — В-лимфоцитов и гранулоцитов.

В таблице 2 показаны соотношения основных клеточных популяций, представленных в коже больных различных групп.

Приведенные в таблице 2 данные свидетельствуют об имеющихся различиях в соотношении клеточных популяций при различных вариантах течения АД. Так, ГВТ дерматоз, клинически представленный преобладанием гиперемии, отека кожи, морфологически характеризовался боль-



шим представительством В-лимфоцитов и клеток Лангерганса, опосредующих гуморальный компартмент локального воспалительного процесса и антигенпрезентирующий механизм. В то же время пролиферативные проявления со стойкой инфильтрацией кожи и лихенификацией характеризовались подавляющим представительством Т-лимфоцитов хелперов/индукторов с недостаточной численностью Т лимфоцитов супрессорно-цитотоксической субпопуляции. ИБТ закономерно был представлен большим числом гранулоцитов в коже и менее выраженной клеточной инфильтрацией Т-хелперами.

В целях оценки функциональной активности клеток, составляющих субстрат инфильтрата кожи, проведено фенотипирование с использованием набора моноклональных антител RIL — 4+, CD95+, Ki67+, TCRαβ+, TCRγδ+, результаты которого представлены в таблице 3.

Из данных таблицы 3 видно, что в составе клеточного инфильтрата кожи у больных АД при всех вариантах течения относительно и абсолютное содержание лимфоцитов, несущих на своей поверхности TCRαβ+ рецептор, превышало число TCRγδ+ лимфоцитов. Данный факт свидетельствовал о том, что основная масса инфильтрирующих кожу лимфоцитов являлась рекрутированной из кровеносного русла. Наибольшая относительная и абсолютная численность TCRαβ+ лимфоцитов была выявлена у больных с ПБТ, в коже которых данный показатель высоко и положительно коррелировал с числом Т-лимфоцитов хелперно/индукторной субпопуляции. Относительное количество лимфоцитов, экспрессирующих TCRγδ+ и считающихся резидентными для эпидермиса и дермы, колебались от 4,6±0,9% до 13,9±2,4%, что не противоречило положению о принадлежности около 10,0% всех локально функционирующих в коже лимфоцитов именно к этому типу. Среди изученных клеток гомогената кожи наибольшая экспрессия рецептора к интерлейкину — 4 (RIL-4) была выявлена на клетках в группе больных с ПБТ, (26,15±4,3% и 131,8±20,2 клеток), что в 2,8 раза превышало показатель у больных с ГВТ и в 2,4 раза — у больных в группе с ИБТ АД.

Среди всех экстрагированных клеток гомогената кожи от 7,25±1,0% до 20,67±3,0% (32,1±3,9 и 104,1±14,5 клеток соответственно) демонстрировали экспрессию внутриклеточного рецептора к МКА Ki67, характеризующего пролиферативную активность. Наибольшее число таких клеток было обнаружено в коже группы больных с ПБТ (20,67±3,0% и 104,1±14,5 клеток), тогда как при ГВТ их было в 3,2 раза, а при ИБТ — в 3,1 раза меньше. Учитывая умеренную отрицательную корреляцию данного показателя с численностью CD4+ и TCRαβ+ лимфоцитов в коже, а также наличие данного рецептора в ядрах других клеток, возможно предположить проявление Ki67 — позитивности не только дермальными лимфоцитами, но и эпидермоцитами из исследованных образцов кожи больных с ПБТ дерматоза. Доля лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к CD95 (Fas/APO-1), определяющий готовность клеток к апоптозу, была незначительна при всех вариантах течения АД, однако в коже пациентов с ПБТ и ГВТ таких клеток выявлялось достоверно больше, чем при ИБТ заболевания. Количество Fas-позитивных лимфоцитов умеренно коррелировало ($r=0,64$) с показателем Ki67+ клеток при ГВТ и крайне высоко ($r=0,95$) при ПБТ. Данный феномен свидетельствует о возможной готовности к апоптозу путем экспрессии Fas/APO-1 рецептора на лимфоцитах именно Ki67+ пула.

Из числа других значимых корреляций обращает на себя крайне высокая отрицательная зависимость между CD4+ и CD8+ лимфоцитами, которая фиксировалась при всех вариантах течения — ГВТ, ИБТ, ПБТ ($r=-0,96$; $-0,95$; $-0,83$). Отме-

чалась также выраженная отрицательная корреляция между содержанием CD8+ лимфоцитов и числом клеток, экспрессирующих RIL-4 при всех вариантах течения АД ($r=-0,74$; $-0,71$; $-0,88$). Данные факты соотносятся с положением о преобладающей патогенетической роли дермальных Т-лимфоцитов хелперно/индукторной субпопуляции и ослаблении функциональной активности лимфоцитов супрессоров.

Заключение

Таким образом, установлены следующие иммуноморфологические и функциональные особенности клеточного инфильтрата дермы при различных вариантах течения АД:

— у больных с ГВТ присутствовали Т-лимфоциты хелперно/индукторной субпопуляции в сочетании со значительным представительством (15,43±2,2%) В-лимфоцитов и дермальных дендритных клеток (CD1a — 8,1±1,1%);

— в коже больных с ИБТ содержание Т- лимфоцитов было в 1,4 раза меньшим, чем при ГВТ, отмечалось превалирование Т-лимфоцитов супрессорно/цитотоксической субпопуляции и максимальное среди других типов значимое представительство гранулоцитов;

— инфильтрат в коже у больных с ПБТ характеризовался высокой клеточностью, состоял из активированных Т-лимфоцитов в 20,67±3,0% позитивных к МКА Ki67+, с максимальной из всех типов готовностью к апоптозу.

Полученные новые научные данные, уточняющие иммуноопосредованные механизмы формирования кожного патологического процесса при АД, позволят предложить иммунологические критерии обоснования выбора терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Российский национальный согласительный документ по атопическому дерматиту (под общ. Ред. Р.М. Хаитова и А.А. Кубановой): Атопический дерматит: наружная терапия. М.: «Фармарус Принт», 2002. 68 с.
2. Сергеев Ю.В., Иванов О.Л., Новиков Д.К. Атопический дерматит: современная диагностика и лечение. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2001; 4: 28-48
3. Суворова К.Н. Атопический дерматит: иммунопатогенез и стратегия иммунотерапии. Русский медицинский журнал.
4. Торопова Н. П. Экзема и нейродермит у детей (Современные представления о патогенезе, клинике, лечении и профилактике). Н. П. Торопова, О. В. Синявская. Екатеринбург, 1993. 276 с.
5. Кунгуров Н.В., Герасимова Н.М., Кохан М.М. Атопический дерматит (типы течения, принципы терапии), Екатеринбург: изда-во Урал. ун-та, 2000. 266 с.
6. Leung D.Y.M.. Atopic dermatitis D. Y. M. Leung, T. Bieber Lancet. 2003; Vol. 361; 151-160
7. Leung, D. Y. M. Characterization of the mononuclear cell infiltrate in atopic dermatitis using monoclonal antibodies/ D. Y. M. Leung, A. K. Bhan, E. E. Schneeberger, R. S. Geha J. Allergy Clin. Immunol. 1989; Vol. 71: 47.
8. Romagnani S. The role of lymphocytes in allergic disease S. Romagnani. J. Allergy Clin. Immunol. 2000; Vol. 105; 399-408
9. Bieber T. Atopic dermatitis T. Bieber, D.Y.M. Leung. New York: Marcel Dekker, 2002. 401 - 418.
10. Wollenberg A. Topical tacrolimus (FK506) leads to profound phenotypic and functional alterations of epidermal antigen-presenting dendritic cells in atopic dermatitis/ A. Wollenberg [et al] J. Allergy Clin. Immunol. 2001; Vol. 107; 519-25.