

Роль гликопротеинового лиганда Р-селектина 1 в миграции лейкоцитов в дерму при васкулитах кожи

Чернигова Е.И., Рукша Т.Г.

ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Красноярск

Представлены данные об определении характера экспрессии молекул, участвующих в процессе воспаления на этапе миграции лейкоцитов в дерму при дермальных васкулитах. Проводилась оценка гистологических препаратов больных с использованием иммуногистохимического метода и идентификацией маркеров. В дерме выявлено значительное увеличение числа положительно окрашенных клеток, экспрессирующих CD162 – гликопротеиновый лиганд Р-селектина 1, в то время как не отмечалось выраженных изменений уровня другой молекулы, опосредующей процессы межклеточной адгезии и диапедеза – CD99. В эндотелиальных клетках отмечалось повышение уровня маркера пролиферации клеток, что указывает на активацию процессов неоангиогенеза сосудов дермы. Выявленные изменения указывают, что при развитии воспалительного процесса в коже при васкулитах осуществляется избирательное повышение экспрессии адгезивных молекул, опосредующих процессы миграции лейкоцитов в дерму, что может быть использовано для выбора новых терапевтических подходов.

Ключевые слова: дермальные васкулиты; воспаление; неоангиогенез; CD162; CD99; PCNA.

THE ROLE OF P-SELECTIN GLYCOPROTEIN LIGAND IN LEUKOCYTE MIGRATION TO THE DERMA IN CUTANEOUS VASCULITIS

Chernigova E.I., Ruksha T.G.

V.F. Voino-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University, 660022, Krasnoyarsk, Russia

The expression of molecules, involved in inflammation process during leukocyte migration to the derma in dermal vasculitis, was studied. Histological preparations from patients were studied by the immunohistochemical method with identification of the markers. The derma contained a significantly higher level of positively stained cells expressing CD162 – P-selectin glycoprotein ligand, while the level of expression of another molecule, mediating cell-cell adhesion and diapedesis, CD99, in fact did not change. The level of cell proliferation marker increased in the endothelial cells, this indicating activation of dermal neoangiogenesis. These changes indicated that the development of inflammatory process in the skin in vasculitis was associated with a selective increase of the expression of adhesive molecules mediating leukocyte migration to the derma, which fact could be used for selecting new therapeutic approaches.

Key words: dermal vasculitis; inflammation; neoangiogenesis; CD162; CD99; PCNA.

Проблема сосудистой патологии кожи остается одной из важнейших в современной дерматологии. Это связано с ростом числа больных данной патологией, нередко с тяжелым рецидивирующим течением, резистентностью к терапии, преимущественным поражением лиц молодого и зрелого трудоспособного возраста, со значительным снижением качества жизни пациентов [1]. Васкулиты кожи – гетерогенная группа заболеваний мультифакториальной природы, основным морфологическим признаком которых является воспаление сосудистой стенки, а спектр клинических проявлений зависит от типа, размера, локализации пораженных сосудов и тяжести сопутствующих воспалительных нарушений. Васкулит является полиэтиологической, монопатогенетической патологией. Предполагаемые механизмы развития заболевания включают образование

патогенных иммунных комплексов с их отложением в стенках сосудов; аутоантител к цитоплазме нейтрофилов и клеткам эндотелия сосудов; клеточный и молекулярный иммунный ответ, включающий образование цитокинов и молекул адгезии; формирование гранулемы; нарушение барьерной функции эндотелия в отношении инфекционных агентов, опухолей и токсинов. Изучение молекулярных механизмов развития иммуноопосредованного воспаления при васкулитах кожи необходимо для оптимизации их диагностики и терапии [2, 3].

Известно, что миграция лейкоцитов в дерму является сложным этапным регулируемым процессом, в котором важную роль отводят молекулам межклеточной адгезии, хемокинам. К таковым относится гликопротеиновый лиганд Р-селектина 1 (CD162) – трансмембранный белок на поверхности лейкоцитов, играющий важную роль в процессе задержки и роллинга лейкоцитов на поверхности эндотелия сосудов, начального этапа в связывании, секвестрации и трансмиграции лейкоцитов при воспалительной реакции в дерму [4]. К другим молекулам со сходной функциональной активностью относят CD99 – O-гликозилированный белок с молекулярной массой 32 кД, экспрессирующийся на большинстве

Сведения об авторах:

Чернигова Екатерина Ивановна, аспирант (katrinas_24@mail.ru); Рукша Татьяна Геннадьевна, доктор мед. наук, профессор (tatyana_ruksha@mail.ru).

Corresponding author:

Ruksha Tatyana, MD, PhD, D.Sc, prof. (tatyana_ruksha@mail.ru).

Клинико-статистический анализ больных дермальными васкулитами

Пол	Средний возраст, годы	Социальный статус	Средняя длительность заболевания, годы	Лабораторные исследования
Мужчины 50%; Женщины 50%	47,56 ± 1,67	Рабочие и служащие 40,7% Инвалиды 37% Пенсионеры 14,9% Безработные 7,4%	7,74 ± 1,01	Развернутый анализ крови: лейкоцитоз у 6,25%, повышение СОЭ у 33,3%, эозинофилия у 7%; Биохимический анализ крови: повышение АЛТ у 5,3%, СРБ у 50%, ЦИК у 20%, криоглобулины у 27,7%. Общий анализ мочи без патологии

лейкоцитов. CD99 участвует в диапедезе, миграции Т-лимфоцитов и клеточной адгезии [5]. Было показано, что дефицит адгезивных молекул приводит к снижению выраженности воспалительного процесса в коже. В этой связи стоит предположить, что изучение молекул адгезии может быть использовано в дальнейшем для разработки новых методов терапии заболеваний кожи, основанных на управлении процессом миграции лейкоцитов в участки воспаления в коже [6].

Целью работы являлось определение характера экспрессии молекул, участвующих в процессе воспаления на этапе миграции лейкоцитов в дерму при дермальных васкулитах.

Материалы и методы

У больных дермальными васкулитами ($n = 90$), находившихся на амбулаторном лечении в Красноярской краевой клинической больнице, проводился анализ следующих клинико-лабораторных данных: половозрастной состав пациентов, их профессиональный анамнез, длительность заболевания, лабораторные показатели – развернутый анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, сопутствующие заболевания (табл. 1).

Для обработки полученных данных использовали пакет программ Statistika 6.0, методы описательной статистики.

Экцизионную биопсию элементов сыпи ($n = 23$) выполняли с последующей фиксацией препаратов в 10% нейтральном забуференном формалине. Изготавливали гистологические срезы толщиной до 5 мкм. Гистологические препараты окрашивали с помощью иммуногистохимического метода с использованием моноклональных антител к CD45, CD162, CD99 ("Сорбент", РФ), PCNA ("BD Biosciences", Великобритания) по стандартной методике с

использованием набора (Novolink®, "Polymer Detection System", Великобритания). Оценку гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа Olympus BX-41 объективом x400. Определяли процент положительно окрашенных клеток дермы в 10 полях зрения с подсчетом среднего значения. Результаты сравнивали с контрольной группой – биоптатами кожи, полученными от здоровых добровольцев ($n = 6$). Статистическую значимость различий оценивали с помощью *U*-критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми признавали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании биоптатов кожи 23 больных дермальными васкулитами регистрировали отек в верхних слоях дермы, пролиферация капилляров, утолщение их стенок, расширение просвета сосудов и набухание эндотелия. Вокруг расширенных сосудов дермы определялись очаговые и сливающиеся инфильтраты из лимфоцитов с большим количеством CD45-положительных клеток по сравнению с контролем (рис. 1). Маркер CD45 является так называемым общим лейкоцитарным антигеном, экспрессирующимся на клетках гемопоэтического ряда. Повышение уровня CD45⁺-клеток демонстрирует наличие гемопоэтических клеток, в первую очередь лейкоцитов, в дерме, где также наблюдались скопления гистиоцитов с наличием тканевых базофи-

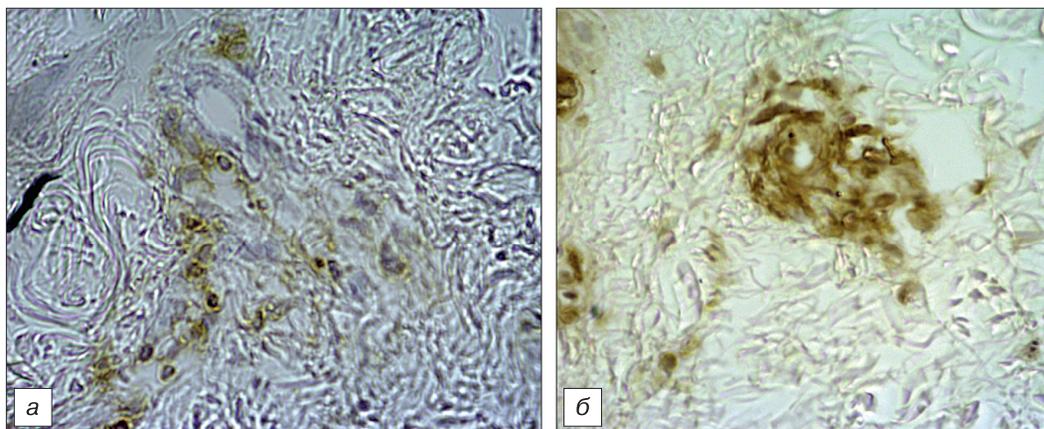


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание кожи на наличие CD45-положительных клеток. Ув. 400. а – кожа пациента из группы контроля; б – кожа больного дермальным васкулитом.

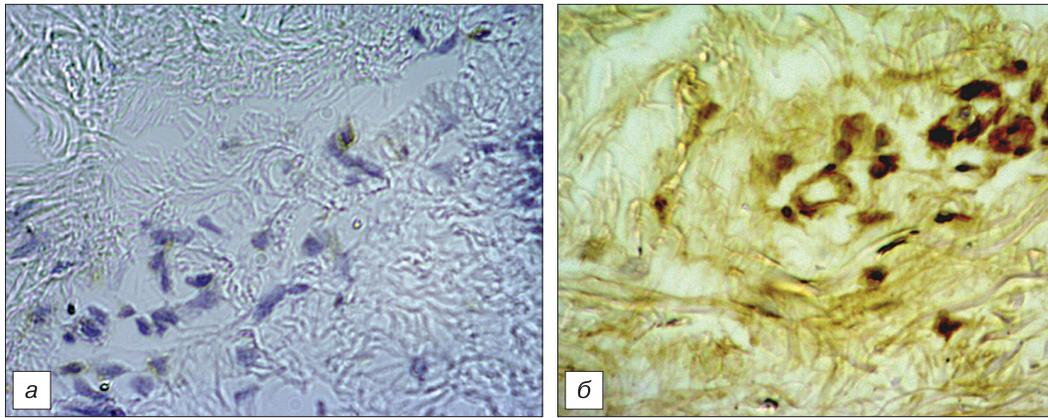


Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание кожи на наличие CD162-положительных клеток. Ув. 400. *а* – кожа пациента из группы контроля; *б* – кожа больного дермальным васкулитом.

лов и фибробластов. Выявлено также значительное увеличение числа положительно окрашенных клеток на исследуемый молекулярный маркер CD162⁺ по сравнению с показателями группы контроля (рис. 2). Отмечена прямая связь иммуноположительных клеток с сосудами дермы, большинство положительно окрашенных клеток – лейкоциты, расположенные переваскулярно. При этом не выявлено изменений уровня CD99 в дерме больных васкулитами кожи по сравнению с показателями контрольной группы. В эндотелиальных клетках определяли PCNA – ядерный антиген пролиферирующих клеток. (табл. 2).

Специфические взаимодействия между эндотелиальными клетками и лейкоцитами обеспечивают молекулы адгезии: селектины, интегрины и суперсемейство иммуноглобулинов. В покое при отсутствии воспаления спонтанная адгезия лейкоцитов к эндотелию и их миграция через эндотелиальный барьер ограничены. Изменения функциональных свойств, а также структуры мембран эндотелиальных клеток, вызванных воздействием цитокинов, могут сохраняться в течение длительного времени, способствуя формированию протромботического провоспалительного состояния, называемого "активация эндотелиальных клеток" [7].

Миграция лейкоцитов к месту повреждения или воспаления имеет первостепенное значение, и этапность адгезии между лейкоцитами и эндотелием гарантирует, что лейкоциты покидают кровоток только в непосредственной близости от очага воспаления. В дальнейшем лейкоциты прилипают к стенке сосуда, передвигаются вдоль эндотелия, пересекают эндотелий и субэндотелиальную базальную мембрану и мигрируют в интерстициальные ткани [8, 9].

Известно, что основными этапами неоангиогенеза являются нарушение целостности базальной мембраны сосудов, координированная миграция и пролиферация эндотелиальных клеток, формирование новых капилляров и их функциональное созревание. Центральными регулирующими факторами для формирования новых сосудов являются фактор роста эндотелиальных сосудов, тромбоцитоподобный фактор роста, фактор роста фибробластов 2, эпидермальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста, трансформирующий фактор роста, фактор некроза опухоли α , продуцируемый кератиноцитами эпидермиса, интерлейкин 1, нейтрофилы, моноциты, макрофаги, лимфоциты [10]. Повышение уровня экспрессии маркера клеточной пролиферации PCNA в эндотелиальных клетках демонстрирует наличие процесса неоангиогенеза в коже. Неоангиогенез, индуцируемый провоспалительными цитокинами, может иметь разнонаправленное значение. С одной стороны, быть компенсаторным механизмом при развившейся ишемии, с другой – являться механизмом, поддерживающим воспаление [11]. Известно, что при аутоиммунном воспалении происходит миграция лейкоцитов в дерму, которые могут продуцировать некоторые из указанных выше цитокинов. Это подтверждается повышенной экспрессией маркеров CD45 и CD162.

Выполненное исследование показало, что у больных дермальными васкулитами наблюдается повышение уровня гликопротеинового лиганда Р-селектина 1 в коже. Эти данные могут быть использованы для разработки способов мониторинга заболевания, дополнительных методов терапии дермальных васкулитов.

Таблица 2
Процент положительно окрашенных клеток в дерме при иммуногистохимическом исследовании кожи при дермальном васкулите

Исследуемый показатель	Нормальная кожа	Дермальный васкулит
CD45	18,98	45,44*
CD99	11,76	13,24
CD162	4,89	64,31*
PCNA	9,08	37,03*

Примечание. * – $p = 0,05$ – статистически значимые различия по отношению к показателям контрольной группы.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Киани А., Ройтман О.В., Грабовская О.В. Динамика коагуляционных и реологических показателей у больных узловой эритемой в процессе традиционной и лазеротерапии. *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2005; 4: 48–51.
[Kiani A., Roytman O.V., Grabovskaya O.V. Dynamics of coagulation and rheological parameters in patients with erythema nodosum in the traditional and laser therapy. *Rossiyskiy zhurnal kozhnykh i venericheskikh bolezney*. 2005; 4: 48–51]. (in Russian)
2. Иванов О.Л. Ангииты кожи. В кн.: Скрипкин Ю.К., Бутов Ю.С., ред. *Клиническая дерматовенерология. Руководство для врачей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009. т.2: 576–89.
[Ivanov O.L. Angiitis of the skin. In: Skripkin Yu.K., Butov Yu.S., eds. *Clinical dermatovenereology. Manual for doctors (Klinicheskaya dermatovenerologiya. Rukovodstvo dlya vrachev)*. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. vol.2: 576–89]. (in Russian)
3. Бутов Ю.С., Волкова Е.Н., Марченко Л.Ф. Мембранопатии при ангиитах кожи. *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 1998; 1: 23–5.
[Butov Yu.S., Volkova E.N., Marchenko L.F. Membranopathies in cutaneous angitis. *Rossiyskiy zhurnal kozhnykh i venericheskikh bolezney*. 1998; 1: 23–5]. (in Russian)
4. Taylor M.L., Brummet M.E., Hudson S.A., Miura K., Bochner B.S. Expression and function of P-selectin glycoprotein ligand (CD162) on human basophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; 106(5): 918–24.
5. Dufour E.M., Deroche A., Bae Y., Muller W.A. CD99 is essential for leukocyte diapedesis in vivo. *Cell Commun. Adhes.* 2008; 15(4): 351–63.
6. Kadono T. The role of adhesion molecules in cutaneous inflammation. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2010; 33(5): 242–8.
7. Шуба Н.М. Современный подход к лечению сосудистых поражений при ревматических болезнях. *Здоровье Украины*. 2008; 10: 47.
[Shuba N.M. Modern approach to the treatment of vascular lesions in rheumatic diseases. *Zdorov'e Ukrainy*. 2008; 10: 47]. (in Russian)
8. Muller W.A. Getting leukocytes to the site of inflammation. *Vet. Pathol.* 2013; 50(1): 7–22.
9. Cook-Mills J.M., Deem T.L. Active participation of endothelial cells in inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 77(4): 487–95.
10. Versteeg H.H., Peppelenbosch M.P., Spek C.A. Tissue factor signal transduction in angiogenesis. *Carcinogenesis*. 2003; 24(6): 1009–13.
11. Carlson J.A., Ng B.T., Chen K.R. Cutaneous vasculitis update: diagnostic criteria, classification, epidemiology, etiology, pathogenesis, evaluation and prognosis. *Am. J. Dermatopathol.* 2005; 27(6): 504–28.

Поступила 22.03.14
Received 22.03.14

© ОЛИСОВА О.Ю., ДАВИДОВИЧ М.И., 2014
УДК 616.5-002-02:616.53-008.811.1]-085

Современный подход к лечению себорейного дерматита

Олисова О.Ю., Давидович М.И.

Кафедра кожных и венерических болезней (зав. – проф. О.Ю. Олисова) лечебного факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, 119991, Москва, Россия

Представлены результаты комплексного лечения 50 больных (28 мужчин и 22 женщины) себорейным дерматитом возрасте от 20 до 45 лет. Изучен состав микрофлоры толстой кишки у этих пациентов до и после лечения. В результате терапии, включающей в себя, помимо традиционного лечения, курс фототерапии лучами 311 нм и препарат, нормализующий микрофлору кишечника, у 87,5% пациентов было отмечено клиническое излечение. У 91% больных достигнута нормализация состава микрофлоры толстой кишки.

Ключевые слова: себорейный дерматит; фототерапия; узкополосная фототерапия лучами Б 311 нм; дисбактериоз; толстая кишка; микрофлора.

A MODERN APPROACH TO THERAPY OF SEBORRHEIC DERMATITIS

Olisova O. Yu., Davidovich M. I.

I.M. Setchenov First Moscow Medical University, 119991, Moscow, Russia

The results of comprehensive treatment of 50 patients (28 men and 22 women) with seborrheic dermatitis are presented. The microflora of the large intestine was studied before and after treatment. The treatment, including, in addition to traditional therapy, a course of phototherapy with 311 nm rays and a drug normalizing the enteric microflora, led to clinical cure in 87.5% patients. Normalization of the large intestinal microflora was attained in 91% patients.

Key words: seborrheic dermatitis; phototherapy; UVB 311 nm; dysbacteriasis; large intestine; microflora.

Себорейный дерматит (СД) – распространенный хронический воспалительный дерматоз, поражающий 2–10% взрослой популяции населения и захватывающий обширные области кожного покрова с повышенным количеством сальных желез: в 88%

случаев лицо, в 70% – волосистую часть головы, в 27% – грудь, в 10% – спину, паховые и подмышечные складки [1]. Клинические проявления СД характеризуются эритемой и папулосквамозными элементами [2]. Чаше СД встречается у мужчин в