

РОЛЬ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ АУТОИММУННЫХ БУЛЛЕЗНЫХ ДЕРМАТОЗОВ.

*Колос Ю.В., Лукьянов А.М., Бич Т.А., Малютин В.А.
Белорусский государственный медицинский университет
Г.Минск, Республика Беларусь*

Введение. Аутоиммунные буллезные дерматозы – гетерогенная группа заболеваний, характеризующихся выработкой аутоантител к определенным антигенным структурам кожи и клинически проявляющихся пузырьным синдромом на коже и/или слизистых оболочках. Наиболее распространены среди них – акантолитическая пузырчатка, герпетиформный дерматоз Дюринга и буллезный пемфигоид [1-5].

«Золотым» стандартом диагностики аутоиммунных буллезных дерматозов является обнаружение аутоантител определенных классов в биоптатах кожи при проведении прямой реакции иммунофлюоресценции. В Республике Беларусь данная методика не применяется в практике, хотя в мире она является основой для постановки диагноза [1-6].

Традиционное гистологическое исследование с определением уровня образования пузыря позволяет провести дифференциальную диагностику между различными группами буллезных дерматозов (например, группой акантолитической пузырчатки и пемфигоидами), но неспецифично в плане верификации конкретной нозологической формы [5,7].

Для гистологического подтверждения диагноза используют панч-биопсию мелкого свежего пузыря целиком или захватывают периферию крупного пузыря на границе со здоровой кожей [7].

При оценке гистологической картины применяют алгоритмический подход:

1. Определяют плоскость, в которой образуются буллезные элементы;
2. Определяют механизм образования элементов (спонгиоз, акантолиз, ретикулярная дегенерация, цитолиз, поражение в зоне базальной мембраны);
3. Оценивают свойства воспалительного инфильтрата, включая его наличие или отсутствие, наличие характерных для дерматоза клеток [7].

Цель. Дать морфологическую характеристику акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида и герпетиформного дерматоза Дюринга

Материалы и методы. В морфологическое исследование включали материал панч-биопсий кожи 11 пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами со следующими нозологическими формами (по МКБ-10):

- L 10.2 Листовидная пузырчатка (1 случай);
- L 10.0 Вульгарная пузырчатка (3 случая);
- L 12.0 Буллезный пемфигоид (4 случая);
- L 13.0 Герпетиформный дерматоз Дюринга (3 случая).

Материал получали при выполнении панч-биопсий в УЗ «Городской клинический кожно-венерологический диспансер» г. Минска. С помощью цилиндрического трепана диаметром 0,5см под местной анестезией 1% раствором лидокаина захватывали мелкие свежие пузыри целиком с окружающей тканью,

крупные пузыри брали в периферической зоне на границе с визуально интактной кожей. Для стандартизации и оптимизации гистологического исследования биопсийный материал при заборе маркировали с указанием пораженных и визуально неизменённых участков кожи.

Клинические данные получали из разработанных карт регистрации клинических данных для морфологического исследования, включающих возраст, пол, анамнез и клинические проявления заболевания, а также характеристику забранного материала.

Для приготовления гистологических препаратов материал панч-биопсий фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заключали в парафин. Из парафиновых блоков выполняли ступенчатые гистологические срезы толщиной 4 мкм, которые депарафинировали в ксилоле, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятой методике.

Оценку морфологических параметров проводили с использованием светового оптического микроскопа «Leica». Иллюстрации микропрепаратов выполняли с использованием цифровой фотокамеры DC200 производства фирмы «Leica».

При исследовании срезов окрашенных гематоксилином и эозином оценивали основные морфологические признаки, характерные для группы аутоиммунных буллезных дерматозов.

Результаты и обсуждение. Морфологические изменения при пузырьчатке характеризовались наличием внутриэпидермальных пузырей, которые располагались либо в шиповатом, либо над зернистым слоями эпидермиса (рисунок 1 А, Б). В области дна пузырей гранулярный слой, как правило, был очагово истончен, либо отсутствовал.

В полости пузыря определялись округлые акантолитические клетки с крупными темными ядрами и бледно окрашенной цитоплазмой, что является патогномичным для группы пузырьчаток, а также гомогенные эозинофильные массы, небольшое количество лимфоцитов и нейтрофилов (рисунок 1 Б). Покрышка пузыря была образована рыхлым роговым слоем. В прилежащих к пузырю участках эпидермиса наблюдался очаговый внутриклеточный отек, очаговый спонгиоз и акантолиз (рисунок 1 В). Вне пузыря эпидермис был либо истончен, либо с явлениями акантоза. Зернистый слой при этом зачастую был сохранен. В дерме определялся отек и периваскулярные лимфоцитарные (рисунок 1 Г) или лимфогистиоцитарные инфильтраты, иногда с примесью нейтрофилов.

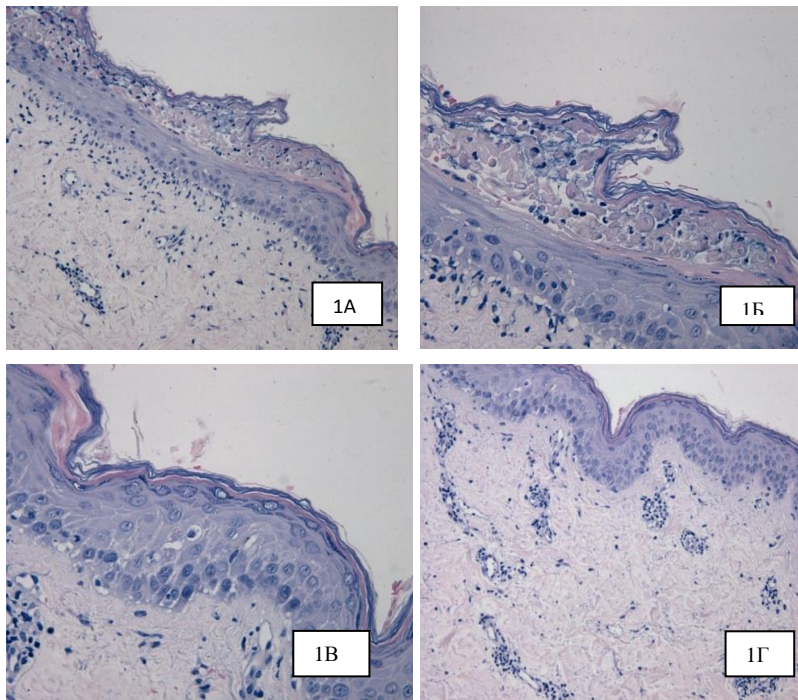


Рисунок 1 – Морфологические признаки пузырчатки. Окраска гематоксилином и эозином: А – Субкорнеальный пузырь с истончением, вплоть до исчезновения зернистого слоя эпидермиса; очаговый спонгиоз и межклеточные щели в шиповатом слое. В полости пузыря акантолитические клетки с примесью нейтрофилов, лимфоцитов. Диффузная лимфоцитарная инфильтрация сосочкового слоя дермы. Объектив 20. Б – То же поле зрения, большее увеличение. Объектив 40. В – Вне пузыря очаговый внутриклеточный отек и спонгиоз клеток шиповатого слоя. Объектив 40. Г – Периваскулярные лимфоцитарные инфильтраты во всех слоях дермы на фоне отека. Объектив 20.

Морфологическая картина буллёзного пемфигоида несколько отличалась.

В одном случае наблюдалась предпузырная фаза данного заболевания. Изменения характеризовались распространенным акантозом эпидермиса, в котором очагово определялись спонгиоз и внутриклеточный отек клеток базального и нижней части шиповатого слоев, местами с образованием мелких субэпидермальных пузырей на фоне выраженного отека стромы сосочков дермы (рисунок 2 А, Б). В строме и периваскулярно в сосочковом и сетчатом отделах дермы выявлялась распространенная, выраженная полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация (рисунок 2 Б, В). Она была представлена лимфоцитами, гистиоцитами с примесью сегментоядерных лейкоцитов (прежде всего эозинофильных).

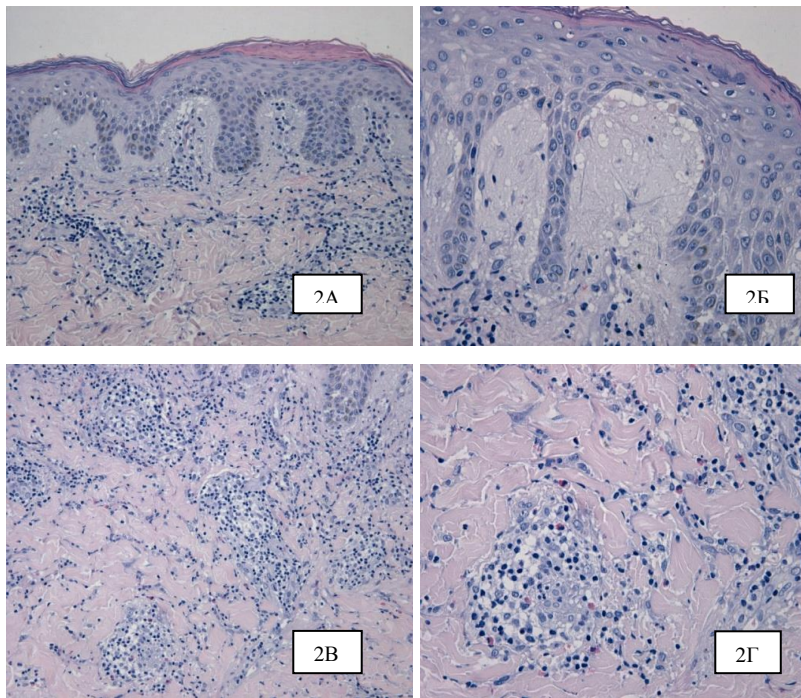


Рисунок 2 – Морфологические признаки буллёзного пемфигоида, предпузырная фаза. Окраска гематоксилином и эозином **А** – Акантоз эпидермиса с очаговым паракератозом, выраженный отек сосочков дермы, распространенная периваскулярная и интерстициальная воспалительная инфильтрация дермы. Объектив 20. **Б** – Очаговый спонгиоз и внутриклеточный отек клеток базального и нижней части шиповатого слоев с образованием мелких субэпидермальных пузырей. Объектив 40. **В** – Распространенная, выраженная полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация в строме и периваскулярно в сосочковом и сетчатом отделах дермы. Объектив 20. **Г** – Клетки воспалительного инфильтрата: лимфоциты, гистиоциты, нейтрофилы и значительное количество эозинофилов. Объектив 40.

В остальных наблюдениях буллёзного пемфигоида имела место фаза сформированного пузыря. При этом определялись субэпидермальные однокамерные пузыри, в просвете которых находился фибрин с примесью сегментоядерных лейкоцитов, преимущественно эозинофилов. Покрышка пузырей была представлена эпидермисом с сохраненными межклеточными мостиками. В эпидермисе вне пузыря наблюдалась очаговая вакуолизация межклеточного пространства и клеток базального, а также шиповатого слоев.

Во всех отделах дермы отмечался очаговый отек, распространенная умеренная, в основном, периваскулярная воспалительная инфильтрация, состоящая преимущественно из лимфоцитов с примесью сегментоядерных лейкоцитов, эозинофилов.

Морфологические изменения при герпетиформном дерматозе Дюринга также несколько различались. Пузыри имели либо субэпидермальную (свежие элементы), либо интрадермальную локализацию (старые элементы). В последнем случае в шиповатом слое определялись однокамерные пузыри, содержащие фибрин и нейтрофилы с примесью немногочисленных эозинофилов (рисунок 3 А, Б).

По периферии пузырей, как свежих, так и старых, выявлялись папиллярные микроабсцессы (рисунок 3 В, Г). В эпидермисе в области вершук дермы – очаговые скопления нейтрофилов с тенденцией к формированию микроабсцессов, экзоцитоз нейтрофилов. Вне пузырей эпидермис характеризовался очаговым внутриклеточным отеком и спонгиозом клеток базального и нижних отделов шиповатого слоев (рисунок 3 Д).

В субэпидермальных отделах дермы наблюдалась умеренная круглоклеточная воспалительная инфильтрация с примесью нейтрофилов и единичных эозинофилов (рисунок 3 Е). В более глубоких отделах инфильтрация определялась периваскулярно и имела аналогичный клеточный состав.

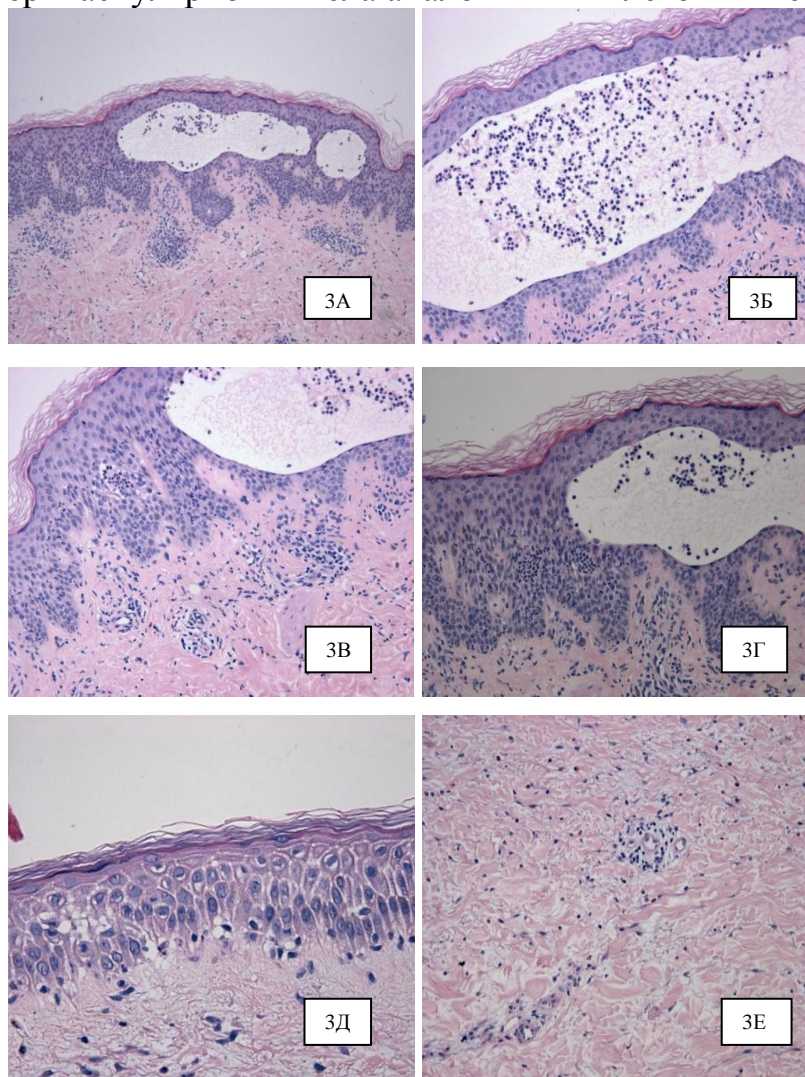


Рисунок 3 – Морфологические признаки герпетиформного Дерматоза Дюринга. Окраска гематоксилином и эозином. А – Внутриэпидермальный пузырь, в дерме очаговая воспалительная инфильтрация. Объектив 10. Б – В полости пузыря фибрин, нейтрофилы с примесью немногочисленных эозинофилов. Объектив 20. В, Г – Папиллярные микроабсцессы в эпидермисе в области вершук дермы. Объектив 20. Д – Эпидермис вне пузырей с очаговым внутриклеточным отеком и спонгиозом клеток базального и нижних отделов шиповатого слоев. Объектив 40. Е – Умеренная круглоклеточная воспалительная инфильтрация с примесью нейтрофилов и единичных эозинофилов в строме и периваскулярно. Объектив 20.

Выводы.

1. Согласно разработанным протоколам гистологического исследования дана морфологическая характеристика акантолитической пузырьчатки, буллезного пемфигоида и герпетиформного дерматоза Дюринга.

2. Основным морфологическим признаком акантолитической пузырьчатки является акантолиз с образованием интраэпидермального пузыря или межклеточных щелей в эпидермисе.

3. Основной морфологической характеристикой буллезного пемфигоида является субэпидермальная локализация пузыря с эозинофильными абсцессами.

4. Основными морфологическими признаками герпетиформного дерматоза Дюринга являются субэпидермальная локализация пузыря и нейтрофильные абсцессы в сосочках дермы.

5. Морфологическое исследование позволяет провести дифференциальную диагностику между отдельными группами аутоиммунных буллезных дерматозов: группой пузырьчаток, пемфигоидов, герпетиформных дерматозов, но неспецифично в плане диагностики конкретной нозологической формы.

6. Для верификации конкретной нозологической формы аутоиммунного буллезного дерматоза необходимо дополнительное проведение специфических иммунологических тестов (иммуногистохимии, ИФА, иммуноблоттинга и других).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Лукьянов А.М. Дифференциальная диагностика пузырных дерматозов / А.М. Лукьянов, Ю.В. Колос, В.А. Малютин, М.В. Левченя, Л.П. Титов //Здравоохранение. - 2011. - №8. - С.29-38.

2. Bologna J. L. Bologna Dermatology 2 volume set / J. L. Bologna [et al.].- 2nd ed. - Elsevier Limited, 2008. – 2500 p.

3. Burns T. Rook's Textbook of Dermatology / T. Burns [et al.]. - 8th ed. - UK: WILEY-BLACKWELL, 2010. – 4362 p.

4. Kneisei A. Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations / A. Kneisei [et al.] // JDDG. - 2011. - № 9. - P. 844-857.

5. Kneisei A. Autoimmune bullous skin diseases. Part 2: diagnosis and therapy / A. Kneisei [et al.] // JDDG. - 2011. - № 9. - P. 927-947.

6. Sidonia Mihai. Immunopatology and molecular diagnosis of autoimmune bullous diseases / Mihai Sidonia, Sitaru Cassian // J. Cell. Mol. Med. - 2007. - № 3. - Vol. 11. - P. 462-481.

7. Elder D. E. Lever's Histopathology of Skin Diseases / David E. Elder [et al.]. - 9th ed. - Lippincott Williams & Wilkins, 2004. – 1219 p.