

УДК 616.53-018+577.112

© Д.А. Равлюк, 2014.

## ОЦЕНКА УРОВНЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ У БОЛЬНЫХ ДЕМОДИКОЗОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ФОРМЫ

Д.А. Равлюк

Кафедра кожных и венерических заболеваний (зав.кафедрой – проф. О. А. Притуло), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского», г. Симферополь.

### ESTIMATION OF A LEVEL OF OXIDIZING MODIFICATION OF PROTEINS AT PATIENTS OF DEMODIKOSIS DEPENDING ON THE CLINICAL-MORPHOLOGICAL FORM

D.A. Ravlyuk

#### SUMMARY

To determine the level of oxidative modification of proteins in patients with demodicosis depending on clinical and morphological forms of the disease in 168 patients participated in the study. Assessing the level of oxidative modification were carried out using the reaction of carbonyl derivatives of proteins and schiff bases with 2,4-dinitrophenylhydrazine to form 2,4-dinitrophenylhydrazone. For histological verification form demodicosis and ultrastructural changes in skin areas used standard techniques. The analysis of the data showed that patients with demodicosis observed relationship between increased levels of oxidative modification of proteins with increasing content of carbonyl groups and the severity of the clinical and morphological manifestations of the disease, indicating that metabolic disturbances in the body with demodicosis, the severity of which determines the clinical manifestation of this dermatosis.

### ОЦІНКА РІВНЯ ОКИСНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У ХВОРИХ ДЕМОДИКОЗОМ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНОЇ ФОРМИ

Д.А. Равлюк

#### РЕЗЮМЕ

Для визначення рівня окисної модифікації білків у хворих на демодикоз залежно від клініко-морфологічної форми захворювання в дослідженні брали участь 168 хворих. Оцінку рівня окисної модифікації проводили з використанням реакції взаємодії карбонільних похідних білків і шіффових основ з 2,4-дінитрофенілгідразином з утворенням 2,4-дінитрофенілгідразонів. Для верифікації гістологічної форми демодикозу та ультраструктурних змін в ділянках шкіри застосовували стандартні методики. Проведений аналіз отриманих даних показав, що у хворих на демодикоз спостерігався взаємозв'язок між підвищенням рівня продуктів окисної модифікації білків із збільшенням вмісту карбонільних груп і тяжкістю клініко-морфологічних проявів захворювання, що свідчить про метаболічні порушення в організмі при демодикозі, ступінь вираженості яких визначає клінічну маніфестацію даного дерматозу.

**Ключевые слова:** демодикоз, гистология, окислительная модификация белков.

Демодикоз – широко распространенное во всех климатических зонах земного шара хроническое паразитарное заболевание кожи человека и животных, вызванное клещами рода *Demodex*. В общей структуре заболеваний кожи демодикоз составляет 2,9 %, а в структуре акнеiformных дерматозов — 10,5 % [1,2,3,5].

Патологический процесс, прежде всего, поражает кожу лица, и поэтому может вызвать тяжелые переживания, являясь причиной невротических расстройств. Обезобразившая внешний вид, дерматоз вызывает снижение трудоспособности, затруднения при выборе работы, конфликты в семье, провоцирует психические стрессы, приводит к социальной дезадаптации и снижению качества жизни больных [5,8]. Известно, что паразитарные инвазии кожи вызывают активацию не только иммунных механизмов, но и биохимических, в частности продуцируются высокоактивные частицы кислорода, которые при-

водят не только к необратимому повреждению паразитов, но и клеток и тканей организма хозяина. Этот факт явился основой для нашего исследования.

Цель исследования: определение уровня окислительной модификации белков у больных демодикозом в зависимости от клинико-морфологической формы заболевания.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал для исследования – биоптат кожи и кровь больных демодикозом. Больные распределены на подгруппы в зависимости от клинико-морфологической формы (табл.1). Для оценки интенсивности спонтанной окислительной модификации белков сыворотки крови был использован метод, модифицированный Дубининой и соавт. [4], основанный на реакции взаимодействия карбонильных производных белков и шиффовых оснований с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов.

Таблица 1

## Распределение больных на группы

Группа больных	Исследование крови (n)	Гистологическое исследование (n)	Электронномикроскопическое исследование (n)
Эритематозная	28	15	6
Папулезная	53	27	6
Пустулезная	40	23	6
Комбинированная	47	23	6
Здоровые	30	6	6

Гистологическое исследование осуществляли по общепринятой методике с последующей окраской гематоксилином и эозином [6]. Просмотр и цифровые фотографии микропрепаратов осуществляли с помощью светового микроскопа «Olympus CX-41».

Фиксацию и проводку для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) осуществляли по стандартной методике [6]. Полутонкие срезы (1 мкм) изготавливали на микроультратоме SEO UMC (Украина), окрашивали метиленовой синью и просматривали в световом микроскопе для ориентировочного определения характера материала. После этого на том же ультратоме изготавливали тонкие срезы (30-60 нм), которые после окраски по Рейнольдсу просматривали на электронном микроскопе ПЭМ-125 К (Украина) и фотографировали на пленку «KODAK» при увеличении от 1000 до 30000.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При морфологическом исследовании участков

кожи больных демодекозом наименьшие изменения наблюдались при эритематозной форме.

При этом отмечались дистрофические изменения эпидермоцитов, в основном, в шиповатом и базальном слоях и проявлялись умеренно выраженным интрацеллюлярным отеком, расстройством кровообращения в капиллярах сетчатого слоя дермы, периваскулярным отеком и разволокнением основного вещества, очаговым перифолликулитом.

Папулезная форма характеризовалась не только прогрессированием интрацеллюлярного отека, но и деструкцией эпителиального пласта за счет расширения межклеточных контактов вплоть до разрыва десмосом, появлением апоптотических эпидермоцитов, нарастанием воспалительной клеточной инфильтрации и гемодинамических расстройств.

Следует отметить важное значение появления в воспалительном инфильтрате тучных клеток (тканевых базофилов) (рис.1).

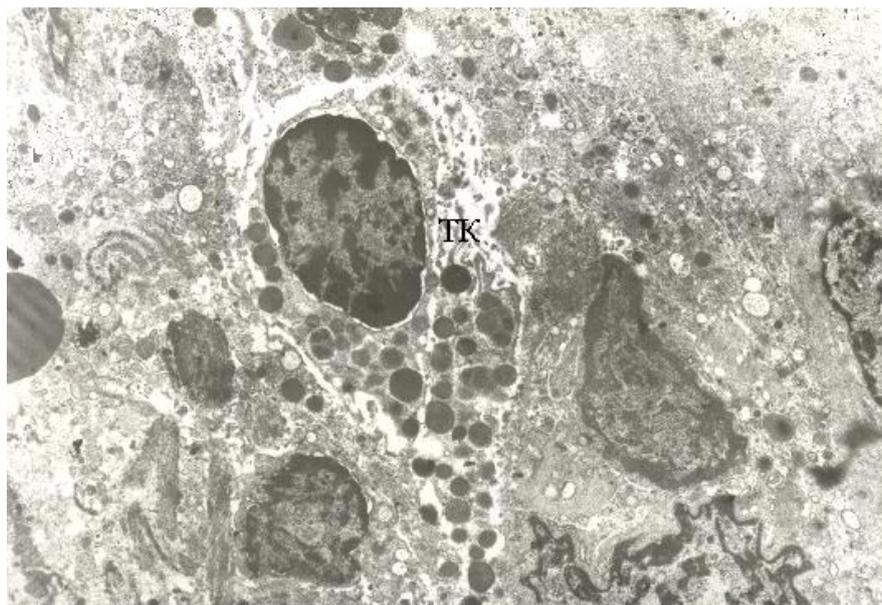
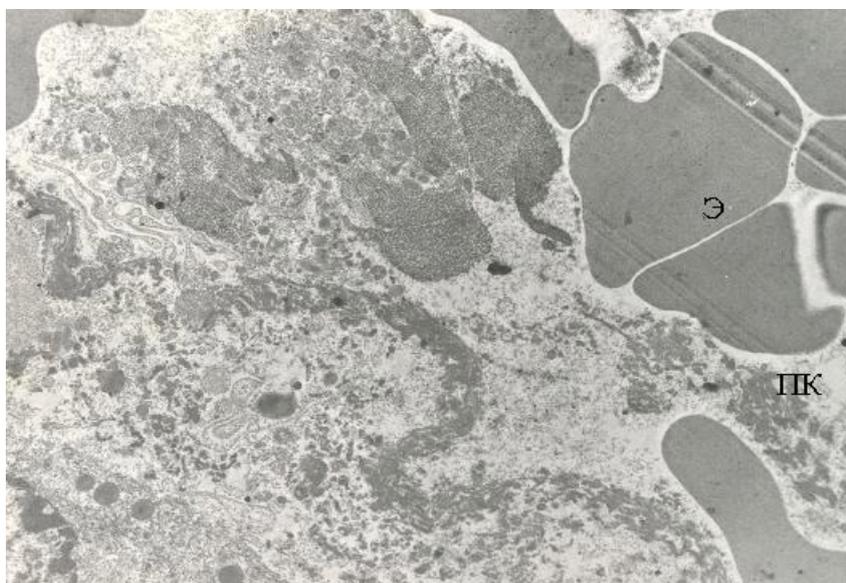


Рис.1. Тучная клетка (TK) в сосочковом слое дермы при папулезной форме демодекоза. ТЭМ. Ув. 3200.

Функция этих клеток заключается в регуляции местного тканевого гомеостаза, то есть в поддержании структурного, биохимического и функционального постоянства микроокружения. Это достигается посредством синтеза тканевыми базофилами и последующим выделением в межклеточную среду гликозаминогликанов (гепарина и хондроитинсерных кислот), гистамина, серотонина и других биологически активных веществ, которые оказывают влияние как на клетки и межклеточное вещество соединительной ткани, так и особенно на микроциркуляторное русло, повышая проницаемость гемокпилляров и, тем самым, усиливая гидратацию межклеточного вещества. Кроме того продукты тучных клеток оказывают влияние на иммунные процессы, а также на процессы воспаления и аллергии.

При возбуждении тканевых базофилов из них выделяются биологически активные вещества двумя путями: дегрануляции и посредством диффузного выделения через мембрану гистамина, который усиливает сосудистую проницаемость и вызывает гидратацию (отек) основного вещества, усиливая тем самым воспалительную реакцию. Повышение проницаемости дает начало экссудативным процессам в ткани.

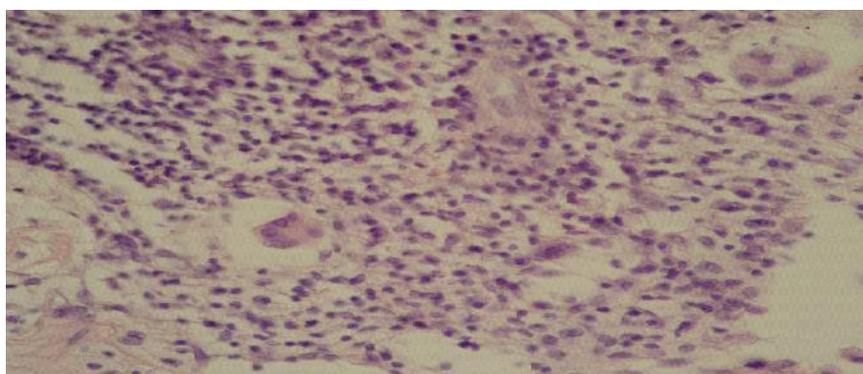
Морфологические изменения при пустулезной форме демодекоза сопровождались наиболее выраженными признаками деструкции клеток с образованием очагов некроза, связанных с лизирующим действием активных нейтрофилов и глубокой гипоксией в результате серьезных расстройств кровообращения в дерме (рис.2).



**Рис. 2. Резко выраженное полнокровие с разрушением стенки сосуда микроциркуляторного русла при пустулезной форме демодекоза. Просвет капилляра (ПК), эритроциты (Э). ТЭМ. Ув. 4000**

При комбинированной форме демодекоза отмечали явления хронизации процесса. Наряду со свежими пустулами и папулами появлялись лимфогис-

тиоцитарные инфильтраты, пролиферация фибробластов, развитие «гранулем инородных тел» вокруг волосяных фолликулов или образование кист (рис.3).

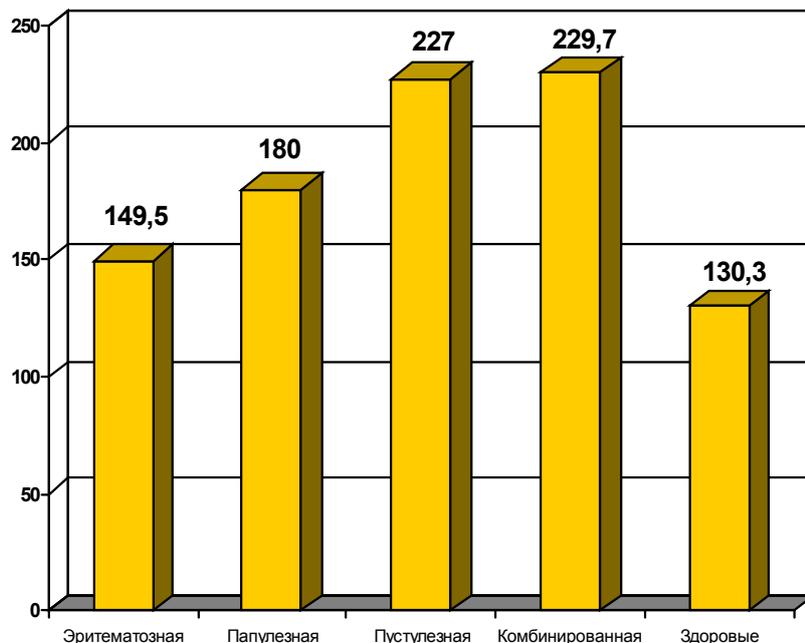


**Рис. 3. Комбинированная форма демодекоза: грануляционная ткань перифолликулярной зоны, «гигантские многоядерные клетки рассасывания инородных тел». Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение: 4<sup>х</sup>.**

Формирование гранулемы обусловлено активацией клеточного иммунитета и характеризуется местной иммунной реакцией ткани на антиген. Постоянное присутствие в коже антигена или иммунных комплексов активирует Т-лимфоциты, которые секретируют цитокины; последние способствуют проникновению в эту зону, активации и пролиферации макрофагов. Активированные макрофаги фагоцитируют и разрушают внедрившейся агент или, по край-

ней мере, изолируют его.

При исследовании биохимических показателей сыворотки крови больных демодекозом выявлено достоверное увеличение продуктов фрагментации карбонильных групп окисленных белков в результате спонтанного окисления при папулезной ( $180,0 \pm 8,4$  КПАмкМ/л), пустулезной ( $227,0 \pm 10,2$  КПАмкМ/л) и комбинированной ( $229,7 \pm 7,4$  КПАмкМ/л) формах дерматоза (рис.4).



**Рис.4. Уровень окислительной модификации белков в сыворотке крови больных демодекозом (КПАмкМ/л)**

#### ВЫВОДЫ

Таким образом, морфологические исследования биопсий кожи больных демодекозом отражают не только клинические формы демодекоза, но и объясняют последовательную цепь морфогенеза заболевания, проявляющуюся закономерной сменой тканевых реакций, таких как альтерация, экссудация и пролиферация. Наличие в воспалительном инфильтрате клеток иммунного воспаления доказывает аутоиммунную природу демодекоза, достаточно освещенную в научно-практической литературе [7,8,9]. Проллиферативное воспаление с формированием гранулем в коже ведут к активации фибробластов и развитию склероза, что сопровождается появлением визуальных дефектов кожи лица.

Проведенный анализ полученных данных показал также, что у больных демодекозом наблюдалась взаимосвязь между повышением уровня продуктов окислительной модификации белков с увеличением содержания карбонильных групп и тяжестью клинико-морфологических проявлений заболевания, что свидетельствует о метаболических нарушениях в организме при демодекозе, степень выраженности которых определяет клиническую манифестацию данного дерматоза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Акбулатова Л.Х. Патогенная роль клеща *Demodex* и клинические формы демодекоза у человека: Вестн. дерматол. – №12 – 1966. – стр. 57 – 61;
2. Бакшт Б.П. Фолликулярный демодекс у больных розацеа.: Вестн. дерматол. – 1966. – №8 – стр. 15 – 21.;
3. Васильева М.С., Ланге А.Б. Популяции клещей-железниц при периоральном дерматите и розацеа.: Всероссийский съезд дерматологов и венерологов 6-й : Тезисы докладов. – 1989. – №2. – стр. 375 – 390.
4. Дубинина Е.Е.. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е.Дубинина, С.О.Бурмистров, Д.А.Ходов и др./ Вопросы мед. Химии – 1995. – №41(1).– стр. 24–26.
5. Коган Б.Г. Демодекоз: рациональная классификация клинических форм заболевания. Влияние иммунных и гормональных изменений.: Укр. журнал дерматологии, венерологии, косметологии. – 2002. – №1(4). – стр. 62 – 66.
6. Сапожников А.Г. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство. / А.Г. Сапожников, А.Е. Дорошевич// Смоленск: САУ, 2000. – 476 с.
7. Akilov O.E. Immune response in demodicosis / O.E. Akilov, K.Y. Mumcuoglu // J. Eur. Acad. Dermatol.

Venereol. – 2004. – V.18. – P.440 – 444.

8. Helm K.F. A clinical and histopathologic study of granulomatous rosacea / K.F. Helm, J. Menz, L.E. Gibson, C.H. Dicken // J. Am. Acad. Dermatol. – 1991. – V.25. – P.1038 – 1043.

9. Moravvej H. Association of rosacea with demodicosis / H. Moravvej, M. Dehghan-Mangabadi, R. Abbasian, G. Meshkat-Razavi // Arch. Iran. Med. – 2007. – V.10, №2. – P.199 – 203.