

А. О. Макаrchук

Морфологічна характеристика інволютивних змін епідермісу у хворих із маласезійною інфекцією шкіри обличчя

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: шкірні хвороби інфекційні, вікові фактори, ультраструктура.

Потребують з'ясування та наступного опрацювання питання про залежність патоморфологічних змін від вікових особливостей шкіри на тлі маласезійного ураження. З метою визначення ультраструктурних інволютивних змін епідермісу у хворих із маласезійною інфекцією здійснили морфологічне дослідження шкіри обличчя 90 пацієнтів, серед них 60 хворих на маласезіоз. Стан епідермісу визначали з використанням електронної мікроскопії. Встановили, що у хворих віком 33–40 років провідним порушенням шкіри обличчя є паракератозний гіперкератоз. У віковій групі 41–50 років найчастіше визначали епідермальний спонгіоз і лімфоцитарну інфільтрацію епідермісу. У пацієнтів віком 51–57 років переважають ушкодження проліферації та диференціювання кератиноцитів. Це свідчить про залежність патоморфологічних змін епідермісу внаслідок маласезійної інфекції від віку пацієнтів.

Морфологическая характеристика инволютивных изменений эпидермиса у больных с малассезийной инфекцией кожи лица

А. А. Макаrchук

Требуют выяснения и дальнейшей разработки вопросы о зависимости патоморфологических изменений от возрастных особенностей кожи на фоне малассезийного поражения. С целью установления ультраструктурных инволютивных изменений эпидермиса у больных с малассезийной инфекцией провели морфологическое исследование кожи лица 90 пациентов, среди которых 60 больных малассезиозом. Состояние эпидермиса определяли с использованием электронной микроскопии. Установлено, что у больных в возрасте 33–40 лет ведущим нарушением кожи лица является паракератозный гиперкератоз. В возрастной группе 41–50 лет чаще всего определяли эпидермальный спонгиоз и лимфоцитарную инфильтрацию эпидермиса. У пациентов в возрасте 51–57 лет преобладают нарушения пролиферации и дифференцировки кератиноцитов. Это свидетельствует о зависимости патоморфологических изменений эпидермиса вследствие малассезийной инфекции от возраста пациентов.

Ключевые слова: кожные болезни инфекционные, возрастные факторы, ультраструктура.**Патология.** – 2015. – №1 (33). – С. 90–94

Morphological characteristics of involutive changes of epidermis in patients with malasseziasis of facial skin

А. О. Макаrchук

Many questions about the dependence of age-appropriate pathological changes of the skin on background malassezia destruction require clarification and further advance.

Aim. In 90 patients with involutive changes in facial skin, including 60 patients with malasseziasis, determination of the state of the epidermis was carried out using electron microscopy.

Methods and results. It was found that in 33–40 years old patients leading violation of facial skin is hyperkeratosis. In the age group of 41–50 years epidermal spongiosis and lymphocytic infiltration of the epidermis are in the foreground. In patients aged 51–57 years damage of proliferation and differentiation of keratinocytes predominates.

Conclusion. This shows the dependence of epidermis pathological changes during malasseziasis on age.

Key words: Skin Diseases, Infectious, Age Factors.**Pathologia.** 2015; №1 (33): 90–94

Доцільність використання морфологічних даних для вибору методів лікування пацієнтів з інволютивними та патологічними змінами шкіри – відомий та обґрунтований факт [1,2]. У сучасній дерматології саме морфологічні критерії виявляються найбільш адекватними для оцінювання структурно-функціонального стану тканин [3], але не розроблені питання індивідуального оцінювання шкірних покривів з урахуванням маласезійного ушкодження. Поодинокими залишаються ультраструктурні дослідження структури зміненої шкіри [4].

За даними досліджень, що здійснені в людини та теплокровних тварин, маласезії можна візуалізувати у зроговілому шарі епідермісу за допомогою дослідження зразків шкірної біопсії, яка показала характерні

патоморфологічні риси – гіперплазію епідермісу та міжклітинний набряк, а також змішаний поверхневий периваскулярний інфільтрат із мононуклеарних клітин, нейтрофілів, еозинофілів [5]. У деяких випадках мікробіоту, яку цитологічно ідентифікували, не виявляють у гістологічних зрізах. Отже, ідентифікація маласезій потребує продовження досліджень і має спонукати до пробної терапії, але недостатня візуалізація цього кератомікозу в гістопатологічних зрізах також не виключає його наявності та потенційного значення [6].

Нині розроблена доволі детальна мікробіологічна характеристика грибів *Malassezia* та їхніх властивостей при взаємодії зі шкірою під час розвитку патології, проте обмеженою залишається інформація про морфологічні

зміни шкіри за умов індукції маласезіозу. Відсутні відомості про залежність патоморфологічних змін від вікових особливостей шкіри на тлі маласезійного ураження.

Мета роботи

Визначення ультраструктурних інволютивних змін епідермісу хворих із маласезійною інфекцією шкіри обличчя.

Пацієнти і методи дослідження

Морфологічне дослідження шкіри обличчя здійснили в 90 осіб з інволютивними змінами шкіри (усі – жінки). Пацієнтів диференціювали на 3 вікові групи, які формували згідно з рекомендаціями [7]: 33–40 років – 18 хворих на маласезіоз шкіри обличчя та 9 пацієнтів контрольної групи); 41–50 років – 27 хворих на маласезіоз і 14 пацієнтів контрольної групи; 51–57 років – 15 хворих на маласезіоз і 7 пацієнтів контрольної групи.

Для ультраструктурного аналізу епоксидні блоки матеріалу шкіри виготовляли з використанням композиції епон-аралдит. Ультратонкі зрізи одержували на ультрамікромомі УМТП-6М («SELMI», Україна). Дослідження здійснили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЭМ-100-01 («SELMI», Україна) при напрузі прискорення 75–80 кВ і первинних збільшеннях від 1500 до 8000 за стандартною схемою [8,9]. Ультраструктурне дослідження виконали на базі лабораторії електронної мікроскопії (зав. – професор І.В. Твердохліб) ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

Використовуючи програмний пакет ImageJ 1,47v і загальні принципи морфометричного аналізу [10,11], вивчали загальну товщину базального, остистого та зернистого шарів епідермісу, чисельну щільність ядер кератиноцитів, мітотичний індекс і ступінь вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони.

Статистично результати опрацювали з використанням пакетів ліцензійних програм Statistica 6.1 (серійний № AGAR909E415822FA). Вірогідність відмінностей між вибірками визначали з урахуванням парного t-критерію Стьюдента, а також непараметричного критерію Вілкоксона у разі відсутності нормального статистичного розподілу. Відповідність розподілу величин нормальному (Гауса) оцінили за допомогою визначення коефіцієнтів ексцесу й асиметрії з використанням відповідних таблиць. Необхідний обсяг вибірки у групах дослідження встановлювали за формулою [12]:

$$n = \frac{t^2 s_x^2}{\Delta^2}$$

де n – чисельність вибірки; t – нормоване відхилення, з яким пов'язаний той чи інший рівень значущості; s_x – вибіркова дисперсія; Δ – величина, що визначає межі довірчого інтервалу.

Результати та їх обговорення

За даними морфологічного дослідження, у хворих віком 33–40 років із діагнованим маласезіозом спостерігали істотне зниження загальної товщини гермінативної зони епідермісу як в ушкодженій

інфекцією ділянки шкіри обличчя (на 34,1%; $p < 0,05$), так і клінічно здорових ділянках шкіри (на 36,4%; $p < 0,05$). Це свідчило про системний характер зменшення загальної товщини базального, остистого та зернистого шарів епідермісу хворих на маласезіоз незалежно від того, клінічно ушкодженою є ділянка шкіри чи ні (табл. 1).

Таблиця 1

Загальна товщина базального, остистого та зернистого шарів епідермісу, мкм (M±m)

Вік	Контрольна група	Хворі на маласезіоз шкіри обличчя	
		Неушкоджена ділянка	Ушкоджена ділянка
33–40 років	53,6±5,9	34,1±4,4*	35,3±4,2*
41–50 років	50,3±4,8	31,6±4,1*	46,7±4,3**
51–57 років	41,2±3,2	26,5±3,2*	35,2±3,9**

Примітки: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою; ** – $p < 0,05$ порівнюючи неушкоджену й ушкоджену ділянки шкіри.

У пацієнтів, які ввійшли у вікову групу 41–50 років, товщина гермінативної зони епідермісу в ушкоджених ділянках шкіри вірогідно не поступалася відповідному показнику осіб контрольної групи, але в більшості спостережень визначили виражені явища міжклітинного набряку остистого та шипуватого шарів. У клінічно неушкоджених ділянках шкіри цей параметр вірогідно поступався контрольному показнику (на 37,2%; $p < 0,05$). Аналогічні за напрямом зміни спостерігали у хворих віком 51–57 років. Названі зміни вказують, що в ушкоджених кератомікозом ділянках відбувається потовщення гермінативної зони епідермісу не завдяки наближенню клітинної маси до контрольного рівня, а внаслідок розвитку явищ спонгіозу з переважаанням міжклітинного набряку.

Визначення чисельної щільності ядер кератиноцитів гермінативних шарів епідермісу не виявило суттєвих відмінностей клінічно неушкодженої шкіри обличчя хворих на маласезіоз від значень контрольної групи в жодній із вікових груп (табл. 2). У всіх хворих виявили вірогідно знижені параметри ушкоджених ділянок шкіри щодо контрольних значень відповідних за віком груп: у пацієнтів 33–40 років – на 27,3% ($p < 0,05$), 41–50 років – на 28,2% ($p < 0,05$), 51–57 років – на 33,7% ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Чисельна щільність ядер кератиноцитів гермінативних шарів епідермісу, $10^3 \times \text{мм}^{-2}$ (M±m)

Вік	Контрольна група	Хворі на маласезіоз шкіри обличчя	
		Неушкоджена ділянка	Ушкоджена ділянка
33–40 років	0,77±0,09	0,73±0,09	0,56±0,12**
41–50 років	0,85±0,12	0,83±0,11	0,61±0,14**
51–57 років	0,98±0,17	0,93±0,19	0,65±0,15**

Примітки: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою; ** – $p < 0,05$ порівнюючи неушкоджену й ушкоджену ділянки шкіри.

Аналіз мітотичної активності кератиноцитів показав, що клінічно здорові ділянки шкіри обличчя незалежно від віку пацієнтів із маласезіозом не відрізнялися статистично значущо від показників контрольної групи (табл. 3), але в ушкодженій шкірі мітотичний індекс епітелію значно поступався показникам здорової шкіри. Так, у хворих віком 33–40 років – на 30,4% ($p < 0,05$), 41–50 років – на 48,5% ($p < 0,05$), 51–57 років – на 49,3% ($p < 0,05$). Ці дані свідчать про супресорний вплив маласезійної інфекції на проліферативну активність кератиноцитів.

Таблиця 3
Мітотичний індекс кератиноцитів, % ($M \pm m$)

Вік	Контрольна група	Хворі на маласезіоз шкіри обличчя	
		Неушкоджена ділянка	Ушкоджена ділянка
33–40 років	2,63±0,32	2,40±0,27	1,67±0,23* ^{**}
41–50 років	2,43±0,24	2,35±0,31	1,21±0,19* ^{**}
51–57 років	2,07±0,21	2,11±0,30	1,07±0,22* ^{**}

Примітки: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою; ** – $p < 0,05$ порівнюючи неушкоджену й ушкоджену ділянки шкіри.

В ушкоджених маласезіозом ділянках шкіри пацієнтів у складі базальних кератиноцитів спостерігали прояви деструкції мітохондріальних крист, ознаки порушення міжклітинних контактних структур остистого та зернистого шарів епідермісу, порушення тонофіламентозної структури епідермісу, виразний міжклітинний набряк. У поодиноких випадках виявляли апоптотично змінені кератиноцити (рис. 1). Ступінь ультраструктурних порушень епідермісу підвищувався з віком хворих (рис. 2, 3).

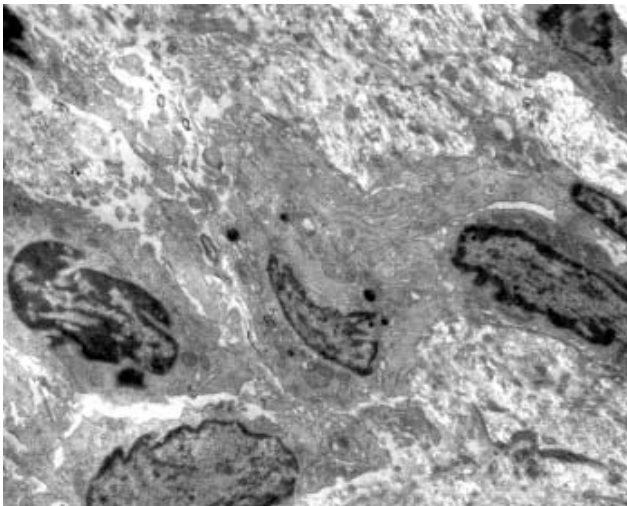


Рис. 1. Ділянка ушкодженої маласезіозом шкіри обличчя пацієнтки віком 36 років. Гермінативна зона епідермісу. Електроннограма. $\times 5000$.

Морфометричний підрахунок клітин, що мають вакуолізовану цитоплазму, виявив закономірне збільшення їхнього числа з віком у контрольній групі. У хворих на маласезіоз виявили істотне переважання таких клітин як у клінічно здорових ділянках шкіри обличчя, так і в ушкоджених кератомікозом зонах (у середньому май-

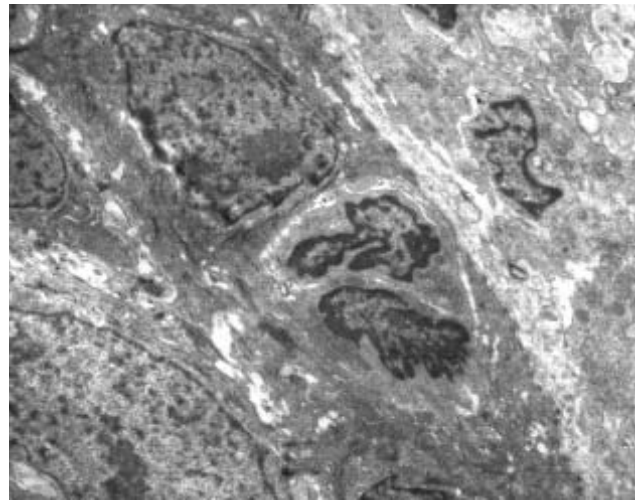


Рис. 2. Ділянка ушкодженої маласезіозом шкіри обличчя пацієнтки віком 44 роки. Гермінативна зона епідермісу. Електроннограма. $\times 5000$.

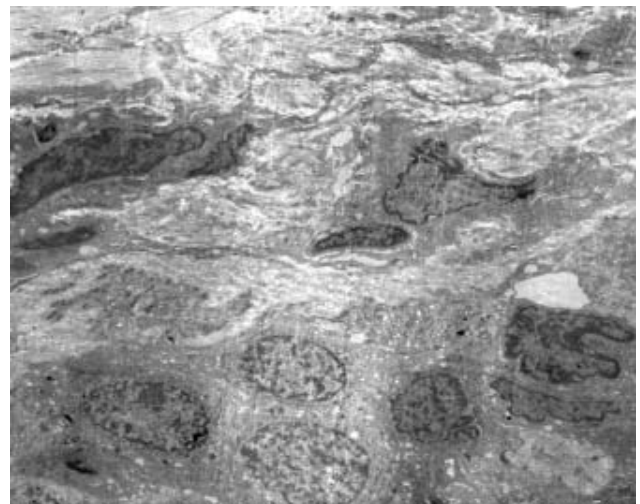


Рис. 3. Ділянка ушкодженої маласезіозом шкіри обличчя пацієнтки віком 55 років. Гермінативна зона епідермісу. Електроннограма. $\times 4000$.

же вдвічі). Статистично значущих відмінностей між ураженими та неураженими ділянками шкіри обличчя не визначили в жодній із вікових груп. Це свідчить про системний характер порушень епідермального гомеостазу при маласезійній інфекції (табл. 4).

Таблиця 4
Ступінь вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони, % ($M \pm m$)

Вік	Контрольна група	Хворі на маласезіоз шкіри обличчя	
		Неушкоджена ділянка	Ушкоджена ділянка
33–40 років	0,53±0,21	0,98±0,21*	1,21±0,10*
41–50 років	2,97±0,68	4,22±0,57*	4,83±0,72*
51–57 років	4,22±1,08	8,56±1,18*	9,32±1,32*

Примітки: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

У результаті дослідження ушкоджених ділянок шкіри визначили, що у пацієнтів віком 33–40 років із маласезіозом ділянки обличчя найбільше були виражені

явища гіперкератозу за паракератозним типом (77,8% пацієнтів), менше – спонгіоз гермінативної зони (44,4% спостережень), лімфоцитарна інфільтрація епідермісу (38,9%) і гіперплазія кератиноцитів (33,3% спостережень). У невеликій кількості пацієнтів у зоні ушкодженої шкіри обличчя спостерігали прояви запальних процесів у зоні шкірних залоз, пригнічення активності макрофагів, а також ушкодження проліферації та диференціювання кератиноцитів (табл. 5).

Таблиця 5

Частота типових патоморфологічних змін у ділянках ушкодженої шкіри обличчя хворих на маласезіоз у вікових групах

Морфологічні ознаки	Вікові групи		
	33–40 років (n=18)	41–50 років (n=27)	51–57 років (n=15)
Гіперкератоз	77,8%	55,6%	46,7%
Спонгіоз	44,4%	85,2%	60,0%
Периваскулярна інфільтрація	66,7%	51,9%	46,7%
Епідермальна інфільтрація	38,9%	74,1%	53,3%
Фолікуліт	16,7%	11,1%	-
Гіперплазія епідермісу	33,3%	22,2%	-
Пригнічення макрофагоцитозу	27,8%	48,1%	73,3%
Ушкодження проліферації та диференціювання кератиноцитів	16,7%	33,3%	86,7%

У віковій групі 41–50 років явища гіперкератозу спостерігали більш ніж у половини пацієнтів із маласезійною інфекцією, проте найчастіше визначали епідермальний спонгіоз (85,2%) і лімфоцитарну інфільтрацію епідермісу (74,1%). Майже в половини цього контингенту хворих (48,1%) виявили пригнічення макрофагоцитозу.

В осіб віком 51–57 років, у яких діагностували маласезіоз, переважали ушкодження проліферації та диференціювання кератиноцитів (86,7%), зберігалися явища спонгіозу (60,0%), імунореактивність епідермісу знижувалась у порівнянні з попередньою віковою групою, прояви фолікуліту та гіперпластичних процесів епідермісу не виявили.

Висновки

1. Морфологічним субстратом розвитку маласезіозу шкіри обличчя є порушення гомеостазу епідермісу та структури керато-дермального з'єднання шкіри. Спектр патоморфологічних змін унаслідок маласезійної інфекції залежить від віку пацієнтів.

2. У хворих віком 33–40 років провідним порушенням шкіри обличчя є паракератозний гіперкератоз. У віковій групі 41–50 років найчастіше виявляли епідермальний спонгіоз і лімфоцитарну інфільтрацію епідермісу. У пацієнтів віком 51–57 років переважали ушкодження проліферації та диференціювання кератиноцитів.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням впливу специфічної антимікотичної терапії на структуру шкіри хворих на маласезіоз у різних вікових групах.

Список літератури

- Jiang L.I. SWIRL, a clinically validated, objective, and quantitative method for facial wrinkle assessment / L.I. Jiang, T.J. Stephens, R. Goodman // *Skin Res Technol.* – 2013. – Vol. 19(4). – P. 492–498.
- The anatomical basis for wrinkles / J.E. Pessa, H. Nguyen, G.B. John, P.E. Scherer // *Aesthet Surg J.* – 2014. – Vol. 34(2). – P. 227–234.
- Forehead wrinkles: a histological and immunohistochemical evaluation / M. El-Domyati, W. Medhat, H.M. Abdel-Wahab et al. // *J Cosmet Dermatol.* – 2014. – Vol. 13(3). – P. 188–194.
- Ultrastructural changes in photorejuvenation induced by photodynamic therapy in a photoaged mouse model / J.Y. Park, Y.H. Jang, Y.S. Kim et al. // *Eur J Dermatol.* – 2013. – Vol. 23(4). – P. 471–477.
- Грибы рода *malassezia* в заболеваниях животных: клинические формы, диагностика / Р.С. Овчинников, М.Г. Маноян, А.Г. Гайнуллина и др. // *VetPharma.* – 2013. – №3(14). – С. 36–52.
- Prevalence of *Malassezia* species associated with seborrheic dermatitis lesions in patients in Argentina / M.L. Sosa, F. Rojas, M. Mangiaterra, G. Giusiano // *Rev Iberoam Micol.* – 2013. – Vol. 30(4). – P. 239–242.
- Морфология человека : учебное пособие / под ред. Б.А. Никитюка, В.П. Чтецова. – 2-е изд., перераб. доп. – М. : Изд-во МГУ, 1990. – 368 с.
- Миронов А.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине : методическое руководство / А.А. Миронов, Я.Ю. Комиссарчик, В.А. Миронов. – СПб. : Наука, 1994. – 400 с.
- Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols / J. Kuo.

– Totowa ; New Jersey : Humana Press Inc., 2007. – 608 p.

- Авгандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Августинцев. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
- Current microscopy contributions to advances in science and technology / A. Méndez-Vilas, N.N. Rigoglio, M.V. Mendes Silva et al. – Badajoz : Formatec, 2012. – 1523 p.
- Лакин Г.Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов. / Г.Ф. Лакин. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

References

- Jiang, L. I., Stephens, T. G. & Goodman, R. (2013) SWIRL, a clinically validated, objective, and quantitative method for facial wrinkle assessment. *Skin Res Technol*, 19(4), 492–498. doi: 10.1111/srt.12073.
- Pessa, J. E., Nguyen, H., John, G. B. & Scherer, P. E. (2014) The anatomical basis for wrinkles. *Aesthet Surg J*, 34(2), 227–234. doi: 10.1177/1090820X13517896.
- El-Domyati, M., Medhat, W., Abdel-Wahab, H. M., Mofteh, N. H., Nasif, G. A., & Hosam, W. (2014) Forehead wrinkles: a histological and immunohistochemical evaluation. *J Cosmet Dermatol*, 13(3), 188–194. doi: 10.1111/jocd.12097.
- Park, J. Y., Jang, Y. H., Kim, Y. S., Sohn, S., & Kim, Y. C. (2013) Ultrastructural changes in photorejuvenation induced by photodynamic therapy in a photoaged mouse model. *Eur J Dermatol*, 23(4), 471–477. doi: 10.1684/ejd.2013.2050.
- Ovchinnikov, R. S., Manoyan, M. G., Gaynullina, A. G. Panin, A. N., & Ershov, P. P. (2013) Griby roda *malassezia* v zabolevaniyakh zhivotnykh: klinicheskie formy, diagnostika [Fungi of genus *malassezia* in animal diseases: clinical manifestations, diagnosis and treatment]. *VetPharma*, 3(14), 36–52. [in Russian].

-
6. Sosa, M. L., Rojas, F., Mangiaterra, M. & Giusiano G. (2013) Prevalence of Malassezia species associated with seborrheic dermatitis lesions in patients in Argentina. *Rev Iberoam Micol*, 30(4), 239–242. doi: 10.1016/j.riam.2013.02.002.
 7. Nikityuk, B. A. & Chtecov, V.P. (Ed). (1990) *Morfologiya cheloveka [Human morphology]*. Moscow: Izd-vo MGU. [in Russian].
 8. Mironov, A. A., Komissarchik, Ya. Yu. & Mironov, V. A. (1994) *Metody e`lektronnoj mikroskopii v biologii i medicine [Electron microscopy methods in biology and medicine]*. Saint Petersburg: Nauka. [In Russian].
 9. Kuo, J. (2007) *Electron microscopy: methods and protocols*. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc.
 10. Avtandilov, G. G. (1990) *Medicinskaya morfometriya. Rukovodstvo [Medical morphometry: Guide]*. Moscow: Meditsina. [in Russian].
 11. Méndez-Vilas, A, Rigoglio, N. N., Mendes Silva, M. V., et al. (2012) *Current microscopy contributions to advances in science and technology*. Badajoz: Formatex.
 12. Lakin, G. F. (1990) *Biometriya [Biometrics]*. Moscow: Vysshaya shkola. [in Russian].
-

Відомості про автора:

Макарчук А.О., клінічний ординатор каф. дерматології та венерології, Запорізький державний медичний університет,
E-mail: makarchuk.art@gmail.com.

Сведения об авторе:

Макарчук А.А., клинический ординатор каф. дерматологии и венерологии, Запорожский государственный медицинский университет,
E-mail: makarchuk.art@gmail.com.

Information about author:

Makarchuk A.O., Clinical Intern of the Department of Dermatovenereology, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: makarchuk.art@gmail.com.

Надійшла в редакцію 27.03.2015 р.