

УДК 616.5-076

DOI: 10.14427/jipai.2020.3.66

Вопросы иммуногистохимической характеристики красного плоского лишая и лихеноидной реакции кожи

А.А. Сыдииков¹, Д.В. Заславский², А.И. Садыков^{2,3}, И.Н. Чупров⁴, Д.В. Козлова², Р.А. Насыров², Е.А. Тимошук²

¹ Стоматологический Институт, Ташкент, Республика Узбекистан

² Санкт-Петербургский Государственный Педиатрический Медицинский Университет Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ ООО «Клиника 21 век», Санкт-Петербург, Россия

⁴ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Questions of immunohistochemical characteristics of lichen planus and lichenoid drug eruption of the skin

A.A. Sidikov¹, D.V. Zaslavsky², A.I. Sadykov³, I.N. Chuprov⁴, D.V. Kozlova², R.A. Nasyrov², E.A. Timoshchuk²

¹ Tashkent State Dental Institute, Tashkent, Uzbekistan

² St.Petersburg State Pediatric Medical University, St.Petersburg, Russian Federation

³ LCC "Medical clinic XXI century", St. Petersburg, Russian Federation

⁴ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

Аннотация

Плоский лишай (ПЛ, красный плоский лишай, lichen ruber planus) и лихеноидная реакция кожи (ЛРК) – папулосквамозные дерматозы со сходными клиническими и гистологическими признаками. С целью выработки более точных критериев дифференциальной диагностики этих заболеваний, нами было проведено проспективное исследование 33 больных классической формой ПЛ и/ЛРК. У всех пациентов была проведена биопсия кожи из очага поражения с последующим гистологическим исследованием. В дальнейшем полученные образцы тканей были использованы для иммуногистохимического исследования на CD4, CD8, CD68, p16, CD207, CD209/DC-SIGN. На основании результатов гистологического исследования все пациенты были разделены на 2 группы. В первую группу вошли больные ЛРК (n=18, 10 женщин и 8 мужчин, средний возраст 45,2 лет), вторую группу составили пациенты с ПЛ (n=12, 7 женщин и 5 мужчин, средний возраст 50,3 года). ИГХ исследование показало, что больных с ЛРК выраженная экспрессия – CD4, CD68, умеренная - CD207/ Langerin и слабая реакция CD209/DC-Sign антигенов по сравнению с второй группой, где отмечалась резко выраженная экспрессия CD4, CD8, CD68 маркеров. В обеих группах реакция на антиген p16 была

Summary

Lichen planus (LP) and lichenoid skin reaction (LR) are papulosquamous dermatoses with similar clinical and histological features. We conducted a prospective study of 33 patients with the classic form of LP and / or LR to develop more precise criteria for differential diagnosis of these diseases. All patients underwent histological and immunohistochemical examination (IHC) of all skin biopsies on paraffin sections using CD4, CD8, CD68, p16, CD207, CD209/DC-SIGN markers. According to the results of histological examination, all patients were divided into 2 groups: patients with LRC (n=18, 10 women and 8 men, average age 45,2 years) were included in the 1 group, the second group consisted of patients with PL (n=12, 7 women and 5 men, average age 50,3 years). The IHC study showed that patients with LR had a more pronounced expression of CD4, CD68, moderate expression of CD207/ Langerin, and a weak reaction of CD209 / DC-Sign antigens compared to the second group, where there was a pronounced expression of CD4, CD8, and CD68 markers. In both groups, the reaction to the p16 antigen was negative. The obtained results imply that CD207 and CD209/DC-Sign markers are the most valuable for accurate and rapid identification of LR. Their usage will allow prompt diagnosis and prescribe specific therapy.

отрицательной. Полученные результаты подразумевают, что маркеры CD207, CD209/DC-Sign являются самыми ценными для точной и быстрой идентификации ЛРК. Их применение позволит своевременно установить диагноз и назначить специфическую терапию.

Ключевые слова

Лихеноидная реакция кожи, красный плоский лишай, иммуногистохимия, CD207, CD209/DC-SIGN.

Введение

Среди множества кожных реакций выделяют острые и хронические, сосудистые, эпителиальные, пигментные, опосредованные клеточным иммунитетом или гуморальным. Примечательно, что одни и те же триггерные факторы могут способствовать возникновению патогенетически различных реакций, и наоборот [1-3]. Плоский лишай (ПЛ) (син. красный плоский лишай) - воспалительное заболевание кожи с неясной этиологией. Классическим примером данного заболевания является болезнь «трансплантат против хозяина», когда возникают высыпания идентичные плоскому лишай на сотый день после назначения иммуносупрессивной терапии у реципиентов аллогенных органов. Изменения на коже при ПЛ характеризуются зудящими плоскими папулами, сиреневого или фиолетового цвета с преимущественной локализацией в области слизистой оболочки полости рта, половых органов, кожи туловища, верхних и нижних конечностей [4]. Лихеноидная реакция кожи возникает чаще всего после приема различных лекарственных препаратов и проявляется плоскими папулами с локализацией преимущественно на коже в области спины, живота, внутренней поверхности предплечий и голеней, коленных и локтевых суставов [5, 6]. Гистологически и ПЛ, и ЛРК характеризуются паттерном воспаления «Interface дерматит» лихеноидного типа. На сегодняшний день четкие представления о механизмах развития и патогенезе ЛРК и ПЛ отсутствуют. Наиболее дискуссионным остается вопрос «Как два абсолютно разных патологических процесса способствуют возникновению гистологически и клинически схожих проявлений?». Отсутствие данных о патогенезе заболевания, а также четких дифференциально-диагностических критериев определило цель нашего исследования: изучение морфологических проявлений ПЛ и ЛРК с использованием иммуногистохимических методов диагностики.

Keywords

Lichenoid skin reaction, lichen planus, immunohistochemistry, CD207, CD209/DC-SIGN.

Материалы и методы исследования

Когорта пациентов для проспективного исследования была составлена за период с 2015 по 2018 год из больных с клиническими проявлениями и гистологическими признаками классической формы красного плоского лишая и лихеноидной реакции кожи (n=33). Все участники исследования были обследованы и проходили лечение на базе дерматологического отделения «ЛенОблЦентра». Биопсийный материал в каждом конкретном случае был подвержен стандартной проводке с последующей заливкой парафином. Часть сделанных срезов (толщина 4-5 мкм) была окрашена гематоксилином и эозином с диагностической целью, другая часть была использована для проведения ИГХ исследования. Основная информация о реактивах (первичные антитела) для ИГХ исследования представлена в таблице 1.

Системы оценки экспрессии различных ИГХ маркеров

При окрашивании срезов интрацеллюлярные гранулы светло- и темно-коричневого цвета были расценены как положительная реакция, для отрицательного контроля окрашивание срезов проводилось без использования первичных антител. Для оценки интенсивности экспрессии маркеров CD4, CD8, CD68, p16, Langerin, CD209/DC-Sign был использован стандартный метод подсчета числа клеток в четырех полях зрения при увеличении x400. Наличие окрашенных гранул в 1-50 клетках расценивалось как слабая экспрессия «+», в 51-100 – как умеренная «++», в 101 и более – как выраженная «+++».

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка полученных нами результатов была проведена с помощью пакета IBM SPSS 21. Статистически значимыми различия между группами принимались при $p < 0.055$, с применением точного критерия Фишера.

Таблица 1. Использованные иммуногистохимические маркеры

Антитела	Клон	Производитель
CD4	AF-379-SP	R&D systems McKinley Place NE, USA
CD8	MAB1509	R&D systems McKinley Place NE, USA
CD68	MAB20401-SP	R&D systems McKinley Place NE, USA
P16INK4a/CDKN2A	AF5779-SP	R&D systems McKinley Place NE, USA
Langerin/CD207	AF2088-SP	R&D systems McKinley Place NE, USA
CD209/DC-SIGN	MAB161-SP	R&D systems McKinley Place NE, USA

Результаты исследования

В наше исследование были включены 33 пациента (16 мужчин и 17 женщин), средний возраст которых $45 \pm 1,0$ лет (в диапазоне 25-60 лет). Проведенная совокупная оценка анамнестических данных, результатов объективного осмотра, гистологического исследования и клинического ответа пациентов позволила получить окончательный диагноз у 30 ($n=30/33, 91\%$) пациентов. В дальнейшем все пациенты были разделены на 2 группы: в первую группу были включены больные с лихеноидной реакцией кожи ($n=18$, средний возраст 45,2 лет, 10 женщин и 8 мужчин), во вторую – с классической формой красного плоского лихена ($n=12$, средний возраст 50,3 лет, 7 женщин и 7 мужчин). Результаты троих пациентов не были рассмотрены, так как гистологическое исследование показало неспецифический характер их воспалительного процесса в дерме.

Результаты иммуногистохимического исследования биоптатов кожи больных лихеноидной реакцией

Иммуногистохимическое исследование показало положительную экспрессию маркеров CD4 и CD8 у всех ($n=18/18, 100\%$) пациентов первой группы (рис. 1, 2). В эпидермисе реакция на CD4 характеризовалась как умеренно положительная у 14 ($n=14/18, 77,7\%$) пациентов и - слабоположительная в оставшихся случаях ($n=4/18, 22,2\%$). Характер экспрессии CD8 клеток в эпидермисе был умеренно положительным у 15 пациентов ($n=15/18, 83,3\%$) и резко выраженным в остальных случаях

($n=3/18, 16,6\%$). В дерме CD4 лимфоциты (хелперы) экспрессировались умеренно положительно у 15 пациентов ($n=15/18, 83,3\%$) и резко положительно у 3 ($n=3/18, 16,6\%$). Реакция на цитотоксические лимфоциты CD8 характеризовалась как умеренно положительная у всех ($n=18/18, 100\%$) больных ЛПК. У всех исследуемых первой группы ($n=18/18, 100\%$) была зарегистрирована отрицательная реакция к антигенам p16 в эпидермисе, в то время как у 1 пациента ($n=1/18, 5,5\%$) была отмечена слабо положительная реакция в дерме. Реакция визуализировалась преимущественно в дерме среди клеток воспалительного инфильтрата. Экспрессия макрофагов CD68 в данной группе больных была выраженной в сосочковом слое дермы и умеренно положительной в эпидермисе у всех пациентов 1 группы ($n=18/18, 100\%$) (рис. 3). Положительная иммуногистохимическая реакция была обнаружена с антителами к зрелым дендритным клеткам CD207/Langerin. Экспрессия выявлялась преимущественно в дермальном инфильтрате как периваскулярно, так и интерстициально у 15 больных ($n=15/18, 83,3\%$, рис. 4) и расценивалась, как умеренно положительная. При этом иммуноокрашивание наблюдалось в ядрах и в цитоплазме клеток исключительно в дерме. Экспрессия маркера незрелых дендритных клеток (CD209/DC-Sign) отмечалась в цитоплазме клеток в виде мелких гранул и была слабо положительной у 13 ($n=13/18, 72,2\%$) пациентов, выявлялась преимущественно в сосочковом слое дермы (рис. 5).

В эпидермисе данный антиген не экспрессировался (Таблица 2, 3).

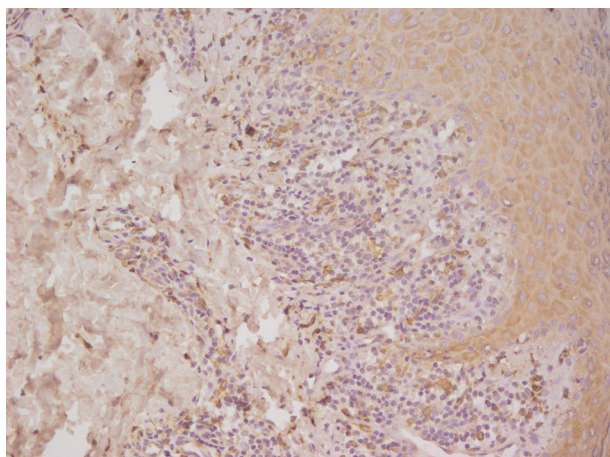


Рис. 1. Резко выраженная положительная реакция в дерме. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD4+ лимфоцитам. Окрашивание ядерное. В эпидермисе отмечается фон. x200

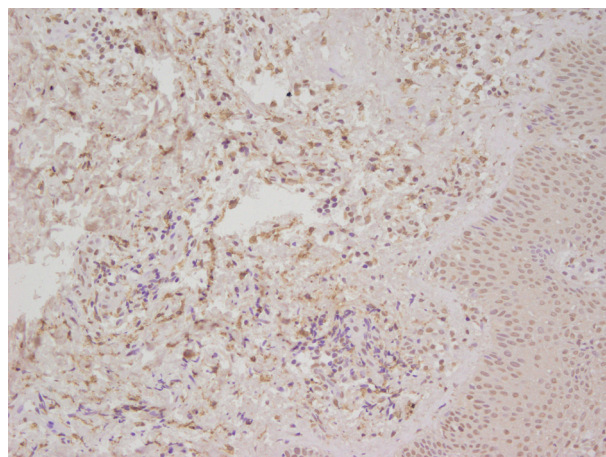


Рис. 2. Резко выраженная положительная реакция в дерме. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD8+ лимфоцитам. Окрашивание ядерное. x200

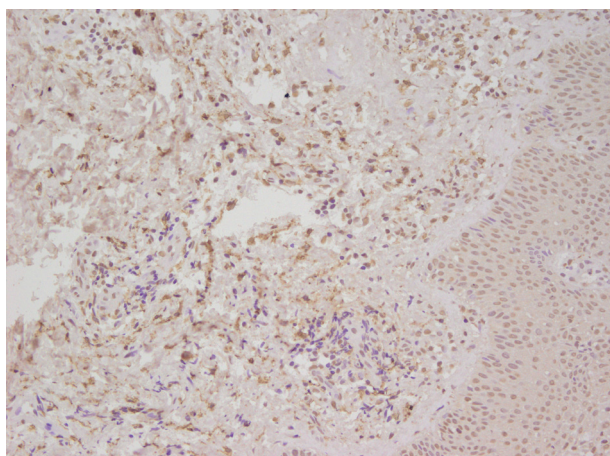


Рис. 3. Резко выраженная положительная реакция как в эпидермисе, так и в дерме. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD68+ макрофагам. Окрашивание ядерное. x200

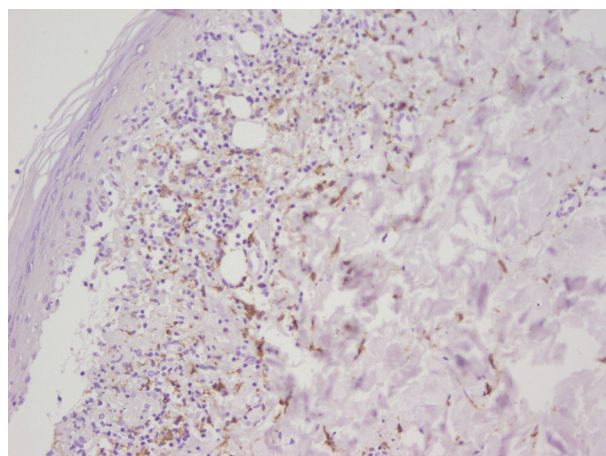


Рис. 4. Умеренно выраженная положительная реакция в дерме. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD207/Langerin зрелым дендритным клеткам. Окрашивание цитоплазматическое. x200

Результаты иммуногистохимического исследования биоптатов кожи больных плоским лихеном

При проведении ИГХ-исследования биоптатов кожи больных плоским лихеном, у всех (n=12/12, 100%) была выявлена резко положительная экспрессия CD4 (хелперов) (рис. 6) и CD8 (супрессор/цитотоксических) (рис. 7) маркеров. Экспрессия антигенов CD4 лимфоцитов (хелперов) и цитотоксических лимфоцитов определялась как в эпидермисе, так и в дерме. Маркер апоптоза p16 не был экспрессирован у всех (n=12/12, 100%)

больных с диагнозом ПЛ. Стоит отметить резко выраженную экспрессию антигена макрофагов CD68 в дерме с полосовидным расположением в сосочковом слое у всех пациентов второй группы (n=12/12, 100%) (рис. 8). В эпидермисе реакция носила слабо положительный характер (Таблица 2, 3). С целью изучения роли дендритных клеток в патогенезе ПЛ нами была проведена оценка экспрессии маркеров зрелых (CD207/Langerin) и незрелых (CD209/DC-Sign) дендритных клеток. Экспрессия CD207/Langerin и CD209/DC-Sign как в эпидермисе, так и в дерме была отрицательной

Таблица 2. Данные иммуногистохимического исследования кожи у больных лихеноидной реакцией кожи и плоским лихеном. Экспрессия маркеров в эпидермисе

ИГХ маркеры	Лихеноидная реакция кожи (n=18)		Плоский лихен (n=12)	
	Кол-во больных	Выраженность экспрессии, %	Кол-во больных	Выраженность экспрессии, %
CD4	18/-	4 (++) 14 (+)	12/-	12 (+++)
CD8	18/-	15 (++) 3 (+++)	12/-	12 (+++)
CD68	18/-	18 (++)	12/-	12 (+)
p16	-/18	18 (-)	-/12	12 (-)
Langerin	-/18	18 (-)	-/12	12 (-)
CD209/DC-Sign	-/18	18 (-)	-/12	12 (-)

Примечание. Числитель – наличие экспрессии, знаменатель – отсутствие экспрессии

Таблица 3. Данные иммуногистохимического исследования кожи у пациентов с лихеноидной реакцией кожи и плоским лихеном. Экспрессия в дерме

ИГХ маркеры	Лихеноидная реакция кожи (n=18)		Плоский лихен (n=12)	
	Кол-во больных	Выраженность экспрессии, %	Кол-во больных	Выраженность экспрессии, %
CD4	18/-	15 (++) 3 (+++)	12/-	12 (+++)
CD8	18/-	18 (++)	12/-	12 (+++)
CD68	18/-	18 (+++)	12/-	12 (+++)
p16	1/17	11 (+)	-/12	12 (-)
Langerin	15/3	15 (++)	-/12	12 (-)
CD209/DC-Sign	13/5	13 (+)	-/12	12 (-)

Примечание. Числитель – наличие экспрессии, знаменатель – отсутствие экспрессии

у всех пациентов 2 группы. Примечательным казался резко выраженный фон при определении реакции, а также отсутствие перинуклеарной экспрессии маркера.

Обсуждение

Красный плоский лихен характеризуется длительным рецидивирующим течением, а также частой рефрактерностью к проводимой терапии, в то время как лихеноидная реакция кожи разрешается лишь после удаления триггерного фактора и не имеет тенденции к рецидивированию. Примечательно, что один и тот же этиологический фактор - прием лекарственных средств - может привести как к ПЛ, так и к ЛРК [7, 8].

Van den Haute V и соавт. считают, что сочетанный анализ гистологических признаков и анамнестических данных (длительный прием препаратов за последний год) у пациентов с ЛРК или ЛП способен улучшить результативность диагностики заболевания [8]. Оба заболевания

гистологически схожи, их патоморфологическая картина представлена Interface дерматитом лихеноидного типа [9-12], однако при проведении детальной компаративной оценки двух дерматозов нами был выявлен ряд отличий.

При иммунофенотипировании биоптатов кожи участников исследования было отмечено, что в составе воспалительного инфильтрата абсолютно у всех пациентов преобладают клетки, экспрессирующие CD4 (хелперы) и CD8+ (цитотоксические) маркеры. Кроме того, в обеих группах отмечается резко выраженная экспрессия маркера макрофагов CD68+. Эти данные сопоставимы с публикациями как зарубежных, так и отечественных авторов.

Положительная иммуногистохимическая реакция с антителами к зрелым (CD207/Langerin) и незрелым дендритным клеткам (CD209/DC-SIGN) у больных лихеноидной реакцией кожи ранее не была описана. Примечательно, что эти маркеры были экспрессированы в дерме, а не в

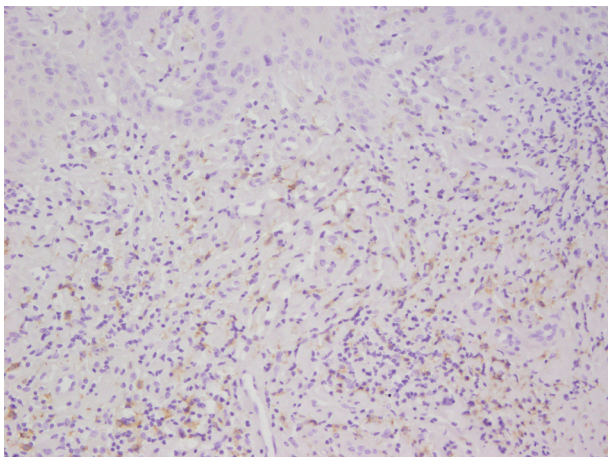


Рис. 5. Слабо выраженная положительная реакция в дерме. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к кCD209/DC-SIGN незрелым дендритным клеткам. Окрашивание ядерное. х200

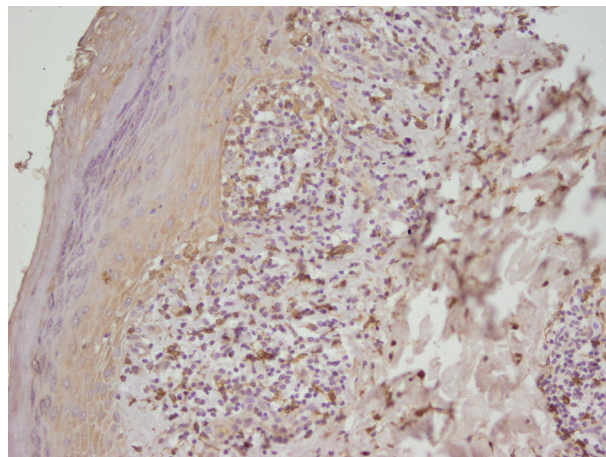


Рис. 6. Резко выраженная положительная реакция в дерме. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD4+ лимфоцитам. Окрашивание ядерное. х200

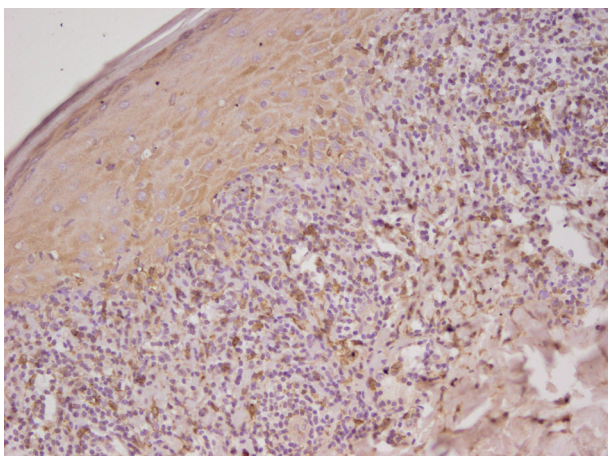


Рис. 7. Резко выраженная положительная реакция как в эпидермисе, так и в дерме. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD8+ лимфоцитам. Окрашивание ядерное и цитоплазматическое. х200

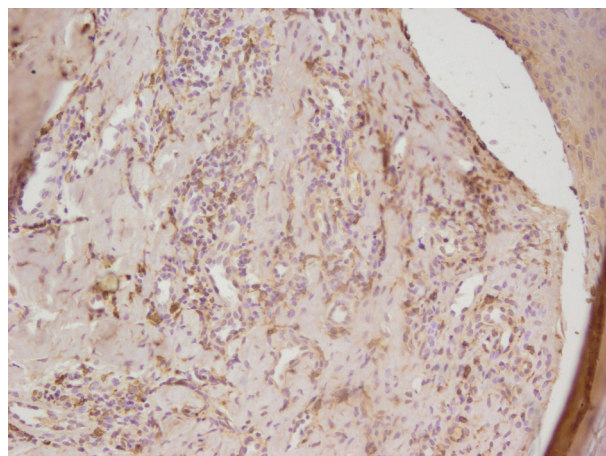


Рис. 8. Резко выраженная положительная реакция в дерме. Иммуногистохимическая реакция с использованием антител к CD68+ макрофагам. Окрашивание цитоплазматическое. х200

эпидермисе. При сопоставлении экспрессии ИГХ маркеров в 1-й и 2-й группах выявлены достоверные отличия в реакции с антителами CD207/Langerin и CD 209/DC-SIGN – $p < 0,0001$ соответственно. Изучаемые маркеры резко положительно проявлялись в дерме у больных ЛПК и вовсе отсутствовали у пациентов с ПЛ. Вероятно, это говорит о достаточной сильной, длительной, постоянной и выраженной персистенции антигена в дерме и первичном вовлечении дермального инфильтрата в патогенезе лихеноидной реак-

ции кожи. В то же время при плоском лихене поражение эпидермо-дермального сочленения вызвано первичной антигенной стимуляцией эпидермиса. Патогенетической основой наличия зрелых и незрелых дендритных клеток является распознавание антигена (лекарственного препарата), приходящего в кожу через капилляры дермы с последующей его презентацией лимфоцитам CD4 и CD8. При этом за счет антигенпрезентирующих клеток, расположенных в эпидермисе (клетки Лангерганса), в воспалительный

процесс вовлекаются кератиноциты, которые в последующем подвергаются вакуольной дистрофии и апоптозу. По нашему мнению, количество зрелых и незрелых дендритных клеток напрямую коррелирует со скоростью развития и степенью выраженности ЛРК. Недавние исследования показали, что CD209/DC-SIGN выявляются в инфильтрате больных грибковидным микозом и синдромом Сезари [13], а CD207/langerin – при других различных воспалительных изменениях кожи.

Заключение

Наши результаты демонстрируют высокую ценность маркеров CD207/langerin и CD209/DC-Sign в вопросе диагностики лихеноидной реакции кожи. Изучение биомолекулярных и физиологических процессов аутоиммунных заболеваний в настоящее время освещает новые

ключевые аспекты их патогенеза. Так, за счет ранее проведенных исследований нам удалось разработать новый симптом для клинической дифференциальной диагностики ЛРК и ПЛ [14]. В дальнейшем более глубокое изучение иммунопатогенеза с применением ИГХ и также мутаций генов, кодирующих белки коннексины (K26, K30, K30.3, K31.1, K37, K43), экспрессирующиеся в коже у больных лихеноидной реакцией и плоским лихеном, даст ответы на оставшиеся вопросы о предрасполагающих факторах развития, регуляции аутоиммунных процессов при ЛРК и ПЛ, а также позволит ввести в терапевтическую практику патогенетическую терапию для пациентов с этими заболеваниями.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Breathnach S. Drug reactions. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, editors. Rook's Textbook of Dermatology. 8th ed. Vol. 4. Oxford: Blackwell Science; 2010: 73.1–177.
2. Halevy S, Shai A. Lichenoid drug eruptions. J Am Acad Dermatol. 1993; 29(2 Pt 1): 249-255.
3. Lukács J, Schliemann S, Elsner P. Lichen planus and lichenoid reactions as a systemic disease. Clin Dermatol. 2015; 33(5): 512-519.
4. Payette Michael J, Weston Gillian, Humphrey Stephen, Yu JiaDe, Holland Kristen E., Lichen planus and other lichenoid dermatoses: Kids are not just little people, Clinics in Dermatology. 2015; 33(6): 631-643.
5. Gru AA, Salavagione AL. Lichenoid and interface dermatoses. Semin Diagn Pathol. 2017; 34(3): 237-249.
6. Родионов А.Н., Заславский Д.В., Сыдилов А.А. Иллюстрированное руководство клинической диагностики по проф. Родионову, М., Изд. дом "Граница", 2018, 461 с.
7. Halevy S, Shai A. Lichenoid drug eruptions. J Am Acad Dermatol. 1993; 29(2 Pt 1): 249-55.
8. Meyrick Thomas RH, Munro DD. Lichen planus in a photosensitive distribution due to quinine. Clin Exp Dermatol. 1986; 11: 97-101.
9. Van den Haute V, Antoine JL, Lachapelle JM. Histopathological discriminant criteria between lichenoid drug eruption and idiopathic lichen planus: Retrospective study on selected samples. Dermatologica. 1989; 179: 10-13.
10. Kerl K. Histopathological patterns indicative of distinct adverse drug reactions. Chem Immunol Allergy. 2012; 97: 61-78.
11. Lage D, Juliano PB, Metzke K, de Souza EM, Cintra ML. Lichen planus and lichenoid drug-induced eruption: A histological and immunohistochemical study. Int J Dermatol. 2012; 51: 1199-1205.
12. Родионов А.Н., Заславский Д. В., Чупров И. Н. и др. Дерматопатология воспалительных заболеваний кожи. Ташкент, Узбекистан, 2014. Baktria press, 122 с.
13. Christoph S., Ochsenbein A., Kaelin U. et al. High numbers of CD209/DC-Sign+ dendritic cells in lesional skin of cutaneous T-cell lymphoma. J. Am. Acad. Dermatol. 2010; Vol. 62, №6: 995–1004.
14. Sidikov A.A., Zaslavsky D.V., Sadykov A.I. et al. The new differential diagnostic test for the lichenoid drug eruption/ Dermatologic therapy 2020; 33. <https://doi.org/10.1111/dth.13784>

Сведения об авторах

Сыдилов А.А., orcid.org/0000-0002-0909-7588

Заславский Д.В., orcid.org/0000-0001-5936-6232

Чупров И.Н., orcid.org/0000-0000-4988-2014

Насыров Р.А., orcid.org/0000-0001-8120-2816

Для корреспонденции: Заславский Денис Владимирович – профессор кафедры дерматовенерологии Санкт-Петербургского Государственного Педиатрического Медицинского Университета, 194100, Литовская ул., 2, Санкт-Петербург, Россия, email: venerology@gmail.com

Поступила 9.08.2020 г.