

# МЕТОД «ШКІРНОГО ВІКНА» У ДІАГНОСТИЦІ АТОПІЧНОГО ДЕРМАТИТУ У ДІТЕЙ

**В.А. Клименко**

*Харківський державний медичний університет*

**Резюме.** У статті надана імуноморфологічна характеристика мазків-відбитків зі шкіри, отриманих методом «шкірного вікна» у хворих із atopічним дерматитом. Кількість головних імунокомпетентних клітин у мазках-відбитках становить:  $CD3=71,35\pm 2,62\%$ ;  $CD4=44,4\pm 2,68\%$ ;  $CD8=27,65\pm 2,7\%$ ;  $CD14=10,05\pm 1,53\%$ ;  $CD16=17,75\pm 1,35\%$ ;  $CD20=16,65\pm 1,04\%$ . Порівняно з неушкодженою шкірою хворого у вогнищах ураження вірогідно підвищена кількість клітин  $CD3$ ,  $CD4$ ,  $CD14$ ,  $CD16$ .

**Ключові слова:** діти, atopічний дерматит, «шкірне вікно», імуноморфологія.

## ВСТУП

Результати чисельних наукових досліджень свідчать, що зміни в «органі-мішені» при захворюванні більш інформативні порівняно з показниками системної реакції. Так, при бронхіальній астмі в першу чергу досліджують мокротиння, рідину бронхоальвеолярного лаважу, біоптати слизової оболонки бронхів (Черняев А.Л. і соавт., 1997); при риніті цитологічне дослідження мазків та змивів із носової порожнини, які занесено до протоколів дослідження (Лопатин А.С. і соавт., 2002). При atopічному дерматиті (АД) найбільш достовірні зміни відзначено при дослідженні ділянок ураження шкіри. Л.М. Гольдштейном та В.Є. Ткачом (1987) розроблена методика визначення еозинофілів у шкірі та доведено, що «місцева еозинофілія» вогнищ ураження вірогідно відрізняється від еозинофілії крові, здорових ділянок шкіри. Зокрема, при екземі еозинофілія ураженої ділянки шкіри становить 7%, а здорової — 2,7%; при нейродерміті — 7% та 4,1% відповідно. Враховуючи, що еозинофілія відображає кінцеву стадію імунопатологічної реакції при АД, а в патогенезі хвороби головними клітинами визнано макрофаги, Т- та В-лімфоцити, науковий інтерес становить визначення кількості саме цих ефекторних клітин у вогнищах ураження при АД.

З іншого боку, розробка у 70-х роках ХХ ст. методу «шкірного вікна» дала можливість клініцистам оцінювати дермограми та вивчати місцеві імуноморфологічні особливості шкірних хвороб малотравматичним та безпечним засобом (Заклякова Л.М., 1971).

Метою роботи було встановлення імуноморфологічних особливостей АД у дітей.

Завдання: апробація методу «шкірного вікна» для отримання мазків-відбитків зі шкіри хворого з АД;

розробка методики ідентифікації імунокомпетентних клітин у мазках-відбитках зі шкіри; імуноморфологічна характеристика запального процесу в шкірі при АД.

## ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Спостерігали 20 хворих з АД у період загострення віком від 3 до 18 років, які перебували на лікуванні в алергологічному дитячому центрі Харкова. Мазки-відбитки отримували методом «шкірного вікна» у модифікації А.І. Щуренкової: після скарифікації ланцетом на шкіру накладали оброблені спиртом предметні скельця, що давало змогу отримати від 6 до 8 мазків-відбитків (Заклякова Л.М., 1971).

Для ідентифікації імунокомпетентних клітин використовували метод імунопероксидазного фарбування. Предметні скельця висушували при кімнатній температурі. Фіксацію клітин на пред-

Таблиця

Імуноморфологічна характеристика мазків-відбитків зі шкіри дітей, хворих atopічним дерматитом												
	CD3		CD4		CD8		CD14		CD16		CD20	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Середнє значення	71,35	59,95	44,4	36,5	27,65	24,15	10,05	6,55	17,75	11,65	16,65	15,8
Стандартне відхилення	5,98	7,58	6,11	5,56	6,17	5,59	3,49	2,19	3,08	2,06	2,37	1,94
Довірчий інтервал	2,62	3,32	2,68	2,45	2,70	2,45	1,53	0,96	1,35	0,92	1,04	0,83
Критерій Стьюдента	5,28		4,27		1,88		3,88		7,37		1,24	
p	<0,001		<0,001		>0,05		<0,001		<0,001		>0,05	

I – мазки-відбитки з вогнищ ураження; II – мазки-відбитки з неушкодженої шкіри.

метному склі проводили 96% спиртом. На мазки-відбитки наносили первинні моноклональні антитіла (немічені мишачі CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD20) на 30 хв, потім скельця промивали тричі в забуференому фізіологічному розчині (ЗФР). Наступним етапом була інкубація мазків-відбитків із кролячою сироваткою проти імуноглобулінів миші протягом 1 год, після чого скельця з мазками-відбитками відмивали тричі ЗФР і проводили інкубацію з пероксидаза-антипероксидазним (ПАП)-комплексом протягом 45 хв. ПАП-комплекс, що зв'язався, відмивали й проводили реакцію цитохімічного виявлення активності пероксидази. Всі інкубаційні цикли, що передбачені в імуногістохімічній реакції, проводили у вологій камері при кімнатній температурі. Підрахунок імунокомпетентних клітин проводили за допомогою світлового мікроскопу на 100 лімфоцитів. Клітини, що експресують антиген, мали обрамлення коричневого кольору по краю цитоплазми.

При інтерпретації результатів дослідження враховували рекомендації 6-ї Міжнародної робочої наради по диференційованим антигенам лейкоцитів людини у м. Кобе, 1996 (Сидоренко С.П., 1998).

Математична обробка результатів проводилась методами варіаційної статистики з використанням програми Microsoft Excel 7.0.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Кількість головних імунокомпетентних клітин у мазках-відбитках з вогнищ уражень та неушкодженої шкіри при АД у дітей представлена у таблиці.

Таким чином, при АД у вогнищах ураження вірогідно підвищується кількість клітин з фенотипом CD3 (Т-лімфоцити), CD4 (Т-хелпери), CD14 (моноцити, тканинні макрофаги і гранулоцити), CD16 (НК-клітини), що свідчить про провідне значення цих клітин у патогенезі АД.

Встановлені імуноморфологічні характеристики дозволяють об'єктивувати та підвищити ефективність диференціальної діагностики імунокомпетентних хвороб шкіри. Так, наприклад, відомо, що при псоріазі, на відміну від АД, збільшується кількість CD4 та CD8-лімфоцитів у шкірі (Катунина О.Р., 2005); при дерматоміозиті домінуючими є CD3, CD8, CD20 та CD68 клітини (Свидов М.Э. и соавт., 2002).

## ВИСНОВКИ

- Апробовано метод «шкірного вікна» для отримання мазків-відбитків зі шкіри хворого з АД.
- Кількість головних імунокомпетентних клітин у мазках-відбитках із вогнищ ураження при АД стано-

вить: CD3=71,35±2,62%; CD4=44,4±2,68%; CD8=27,65±2,7%; CD14=10,05±1,53%; CD16=17,75±1,35%; CD20=16,65±1,04%.

- Порівняно з неушкодженою шкірою хворого у вогнищах ураження вірогідно підвищена кількість клітин CD3, CD4, CD14, CD16.

## ЛІТЕРАТУРА

- Гольдштейн Л.М., Ткач В.Е. (1987) Методы и методики обследования больных кожными и венерическими заболеваниями. Здоров'я, Київ, 112 с.
- Заклякова Л.М. (1971) Клиническая оценка дермограммы по Rebusk у больных ревматизмом средней степени активности. Вопросы ревматизма, 2: 75–78.
- Катунина О.Р. (2005) Имунная система кожи и её роль в патогенезе псориаза. Вестн. дерматол., 1: 19–22.
- Лопатин А.С., Гушин И.С., Емельянов А.В., Козлов В.С., Коренченко С.В., Пискунов Г.З., Рязанцев С.В., Ханфриян Р.А. (2002) Клинические рекомендации по диагностике и лечению аллергического ринита. Ринология, 1: 3–23.
- Свидов М.Э., Насонова В.А., Османов А.О., Мамаев И.А., Раденска-Лоповок С.Г., Насонов Е.Л. (2002) Иммуногистологическое изучение клеток воспалительного инфильтрата при дерматомиозите. Иммунология, 3: 147–152.
- Сидоренко С.П. (1998) Поверхностные антигены клеток человека, систематизированные Международными рабочими совещаниями по дифференцированному антигенам лейкоцитов человека. Иммунология та алергологія, 3: 16–26.
- Черняев А.Л., Грובה О.М., Самсонова М.В., Зашихин А.Л. (1997) Морфология и цитология бронхиальной астмы. В кн.: А.Г. Чучалин (Ред.) Бронхиальная астма. В 2 томах, Т. 1, Агар, Москва, 432 с.

## МЕТОД «КОЖНОГО ОКНА» В ДИАГНОСТИКЕ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ

В.А. Клименко

**Резюме.** В статье представлена иммуноморфологическая характеристика мазков-отпечатков с кожи, полученных методом «кожного окна» у больных с atopическим дерматитом. Количество основных иммунокомпетентных клеток в мазках-отпечатках составило: CD3=71,35±2,62%; CD4=44,4±2,68%; CD8=27,65±2,7%; CD14=10,05±1,53%; CD16=17,75±1,35%; CD20=16,65±1,04%. В сравнении с неповрежденной кожей в очагах поражения достоверно повышено количество клеток CD3, CD4, CD14, CD16.

**Ключевые слова:** дети, atopический дерматит, «кожное окно», иммуноморфология.

**METHOD OF A «SKIN WINDOW»  
IN DIAGNOSTICS OF THE ATOPIC  
DERMATITIS IN CHILDREN**

**V.A. Klimenko**

**Summary.** *The immunomorphological characteristic of skin painting-imprints of patients suffering from the atopic dermatitis is given in the article. The skin painting-imprints were got by using the method of a skin window. The amount of main immune cells in painting-imprints were:  $CD3 = 71,35 \pm 2,62\%$ ;  $CD4 = 44,4 \pm 2,68\%$ ;  $CD8 = 27,65 \pm 2,7\%$ ;  $CD14 = 10,05 \pm 1,53\%$ ;  $CD16 = 17,75 \pm 1,35\%$ ;  $CD20 = 16,65 \pm 1,04\%$ . The amount*

*of  $CD3$ ,  $CD4$ ,  $CD14$ ,  $CD16$  were increased in comparison with visible healthy skin considerably.*

**Key words:** *children, atopic dermatitis, «skin window», immunomorphology.*

**Адреса для листування:**

Клименко Вікторія Анатоліївна  
61022, Харків, пр. Леніна, 4  
Харківський державний  
медичний університет, кафедра дитячих хвороб  
4-го медичного факультету  
E-mail: klim-64@mail.ru