Сведения об авторах:

Грачев Виталий Викторович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры детской психиатрии и психотерапии;
тел.: 89104750773; e-mail: gratchev@mail.ru

Шевченко Юрий Степанович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой;
тел.: 84959541314; e-mail: shevchenko_2010@mail.ru

Малыгин Владимир Леонидович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой
психологического консультирования, психокоррекции и психотерапии; e-mail: malyginvl@yandex.ru

Антропов Юрий Федорович, доктор медицинских наук, профессор кафедры
детской психиатрии и психотерапии; тел.: 84959541314; e-mail: europsy@mail.ru

Зайцев Вадим Петрович, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической психологии;
тел.: 89161506414; e-mail: 89161506414@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616.5-002.72

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14055>

ISSN – 2073-8137

КОНФОКАЛЬНАЯ ЛАЗЕРНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ МИКРОСКОПИЯ КОЖИ ПРИ ГРИБОВИДНОМ МИКОЗЕ: ПРИМЕР СОПОСТАВЛЕНИЯ С ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИМИ КРИТЕРИЯМИ ДИАГНОСТИКИ

И. А. Куклин, М. М. Кохан, Н. В. Зильберберг, Г. Д. Сафонова, Е. П. Топычканова

Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии
и иммунопатологии, Екатеринбург, Россия

REFLECTANCE CONFOCAL MICROSCOPY OF SKIN IN THE DIAGNOSTICS OF THE MYCOSIS FUNGOIDES: AN EXAMPLE OF THE COMPARISON WITH PATHOMORPHOLOGICAL CRITERIA OF THE DIAGNOSTICS

Kuklin I. A., Kokhan M. M., Zilberberg N. V., Safonova G. D., Topychkanova E. P.

Ural Research Institute of Dermatovenereology and Immunopathology, Ekaterinburg, Russia

Обсуждается проблема диагностики ранних стадий грибовидного микоза в практике врача-дерматовенеролога. Приводится сравнение результатов конфокальной лазерной сканирующей микроскопии кожи и патоморфологических исследований биоптатов кожи у 25 больных грибовидным микозом, проведенных двумя независимыми экспертами. Полученный опыт диагностики проиллюстрирован на клиническом примере.

Ключевые слова: грибовидный микоз, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия кожи, патоморфологические исследования кожи, критерии диагностики

The article discusses the problem of diagnostics of early stages of mycosis fungoides in the practice of dermatologist. The authors compare the results of reflectance confocal microscopy of skin and pathomorphological studies of skin biopsy specimens in 25 patients with mycosis fungoides conducted by two independent experts. The obtained experience of the diagnostics is illustrated by a clinical example.

Keywords: mycosis fungoides, reflectance confocal microscopy of the skin, pathomorphological studies of skin, diagnostic criteria

Для цитирования: Куклин И. А., Кохан М. М., Зильберберг Н. В., Сафонова Г. Д., Топычканова Е. П. КОНФОКАЛЬНАЯ ЛАЗЕРНАЯ СКАНИРУЮЩАЯ МИКРОСКОПИЯ КОЖИ ПРИ ГРИБОВИДНОМ МИКОЗЕ: ПРИМЕР СОПОСТАВЛЕНИЯ С ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИМИ КРИТЕРИЯМИ ДИАГНОСТИКИ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1.1):79-82. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14055>

For citation: Kuklin I. A., Kokhan M. M., Zilberberg N. V., Safonova G. D., Topychkanova E. P. REFLECTANCE CONFOCAL MICROSCOPY OF SKIN IN THE DIAGNOSTICS OF THE MYCOSIS FUNGOIDES: AN EXAMPLE OF THE COMPARISON WITH PATHOMORPHOLOGICAL CRITERIA OF THE DIAGNOSTICS. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1.1):79-82. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14055> (In Russ.)

Грибовидный микоз (ГМ) – наиболее часто встречающаяся форма первичных Т-клеточных лимфом кожи, которая характеризуется пролиферацией малых и средних Т-лимфоцитов с наличием церебриформных ядер и сопровождается этапностью развития клинических проявлений в виде пятен, бляшек и опухолей [1–3].

Проблема диагностики ГМ в учреждениях кожно-венерологического профиля до сих пор не утратила своей актуальности, в связи с тем, что клинические проявления ГМ на ранних стадиях заболевания могут имитировать различные хронические воспалительные дерматозы. В связи с этим врач-дерматовенеролог, как правило, являющийся специалистом «первого контакта» при обращении больного в медицинское учреждение, может испытывать определенные затруднения с установлением правильного диагноза. «Золотым стандартом» диагностики ГМ является клиническое обследование с картированием очагов поражения, биопсия кожи с патоморфологическими и иммуногистохимическими исследованиями, определение перестройки гена Т-клеточного рецептора [2–6].

Несмотря на достижения в области патоморфологии, иммуногистохимии и молекулярной диагностики ранних стадий ГМ, ложноположительные, ложноотрицательные и неуточненные диагнозы не являются редкостью, а преддиагностический период может достигать нескольких лет [5, 7].

В данной ситуации приобретает особое значение высокотехнологичный метод неинвазивного исследования «in vivo» патоморфологических особенностей кожи, приближенный к традиционной световой микроскопии гистологических образцов – конфокальная лазерная сканирующая микроскопия кожи (КЛСМ). Метод КЛСМ основан на технологии послойной регистрации отраженного света от клеточных структур кожи для последующего создания объемного изображения.

Преимуществами данного метода являются: быстрота получения результатов по сравнению с классическим патоморфологическим исследованием; послойное изучение особенностей цитоархитектоники эпидермиса и дермы с заданной толщиной оптического среза; оценка васкуляризации сосочковой части дермы; возможность выполнения исследования при отсутствии добровольного информированного согласия больного на проведение биопсии кожи, что особенно актуально в связи с локализацией опухоли в косметически значимых или проблемных для пациента зонах [8, 9].

Научные исследования патоморфологии эпидермиса и дермы у больных ГМ методом КЛСМ в существующей мировой литературе немногочисленны и носят описательный характер, тем не менее подчеркивают его высокую диагностическую ценность и определенную корреляцию получаемых результатов с данными гистологического исследования биоптата кожи [10, 11].

Цель данного исследования – сопоставление диагностических критериев верификации диагноза на основе результатов конфокальной лазерной сканирующей микроскопии и патоморфологических исследований биоптатов кожи у больных с установленным диагнозом ГМ.

Материал и методы. В клинике Уральского НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии изучены диагностические возможности КЛСМ у 25 больных ГМ IB–IIIA стадий. Диагноз ГМ у каждого больного был установлен на основании анамнеза, клинической кар-

тины, результатов патоморфологического и иммуногистохимического методов исследования биоптатов кожи с использованием стандартного комплекса гистологического оборудования и иммуногистостейнера Bond-maX (LEICA, Germany). КЛСМ кожи была выполнена с использованием микроскопа Vivascope® 1500 (Mavig GmbH, USA) с диодным лазером с длиной волны 830 нм, на глубину до 200 мкм – уровня поверхностной дермы. Программное обеспечение позволило использовать фиксированную толщину оптического среза, равную 1 мкм, при расстоянии между оптическими срезами 5 мкм с получением мозаичного изображения измененной кожи площадью 4х4 мм. С целью более корректного сопоставления имиджей, полученных методом КЛСМ и при патоморфологических исследованиях биоптата, у больных ГМ были использованы не только вертикальные, но и горизонтальные парафиновые срезы толщиной 5 мкм. В исследовании принимали участие два независимых эксперта: врач-патоморфолог и врач-дерматовенеролог, являющиеся сертифицированными специалистами. Получены информированные согласия больных на проведение КЛСМ и биопсии кожи.

Результаты и обсуждение. За период 2014–2017 гг. двумя независимыми экспертами был проведен анализ результатов КЛСМ кожи и патоморфологических исследований кожных биоптатов у 16 мужчин и 9 женщин в возрасте от 34 до 77 лет с верифицированными диагнозами ГМ IB–IIIA стадий.

Метод КЛСМ позволил автоматически послойно сканировать на фиксируемую глубину оптические срезы кожи от рогового слоя до уровня поверхностной дермы и получить изображения с возможностью изучения клеточных структур и сосудистого кровотока, которые по разрешающей способности были приближены к гистологическому исследованию кожи.

При КЛСМ кожи больных в области патологического очага определялись признаки, которые корреспондировались с опубликованными данными описательных исследований [7, 10, 11]: дезорганизация клеточной структуры эпидермиса; обнаружение микроабсцессов Потрие (округлых гипореактивных полостей со светлой капсулой, внутри которых визуализируются единичные атипичные лимфоциты); наличие атипичных лимфоцитов, расположенных диффузно в эпидермисе и на уровне дермо-эпидермального соединения; выявление «симптома потоков» – фокального осевого удлинении кератиноцитов, расположенных в виде цепочки или полосы между сосочками дермы; наличие атипичных лимфоцитов и расширенных микрососудов в сосочках дермы.

Последующие исследования вертикальных и горизонтальных срезов биоптатов кожи больных из участков, исследованных методом КЛСМ, выявили следующие характерные патоморфологические признаки ГМ: а) эпидермотропизм активированных лимфоцитов с формированием инфильтрата, расположенного в верхних слоях дермы (локального на ранних стадиях ГМ и полосовидного – в более поздних сроках), состоящего преимущественно из малых и средних Т-лимфоцитов, часть которых имеет церебриформные ядра; б) локальное исчезновение дермо-эпидермальной границы с внедрением в этих участках лимфоцитов в базальный слой эпидермиса на ранних стадиях ГМ и постепенным нарастанием данного процесса; в) постепенное распространение

ние лимфоцитов в шиповатый слой эпидермиса, их диффузное расположение; г) формирование микроабсцессов Потрие в эпидермисе, содержащих Т-лимфоциты; д) наличие значительного количества расширенных микрососудов, особенно в сосочковом слое дермы.

При обобщении полученных данных двух независимых экспертов было отмечено, что присутствие диагностических признаков ГМ при КЛСМ кожи зависело от стадии развития патологического процесса и закономерно изменялось в динамике прогрессирования заболевания. Уже на ранних (IB–IIA) стадиях заболевания у больных ГМ выявлялись атипичные лимфоциты в эпидермисе и на уровне дермо-эпидермального соединения, микроабсцессы Потрие и эпидермальная деструкция. У больных с поздними (IIB–IIIA) стадиями ГМ прослеживалась максимально выраженная эпидермальная деструкция, отмечалось значительное нарастание васкуляризации дермы, увеличение объема и плотности дермального инфильтрата, состоящего из атипичных лимфоцитов, что свидетельствовало об их высокой пролиферативной активности. При прогрессировании заболевания одновременно отмечалась обратная тенденция к уменьшению обнаружения микроабсцессов Потрие. Так, при КЛСМ кожи микроабсцессы Потрие были обнаружены у 45,0 % больных с ранними стадиями ГМ, в то же время данный диагностический признак не был выявлен ни у одного больного с поздними стадиями заболевания, что объяснялось дальнейшей деструкцией эпидермиса.

Сопоставление изученных КЛСМ признаков и патоморфологических критериев диагностики ГМ наглядно продемонстрировано (рис. 1, 2 и 3) на примере больного В., 57 лет, с Ds: ГМ IIA (T2N1M0B0). На коже плеч, предплечий, груди, живота, спины и правого бедра больного присутствовали розовато-красные пятна и умеренно инфильтрированные бляшки диаметром до 4,5 см, округлой формы с четкими границами и шероховатой поверхностью. На поверхности бляшек отсутствовал рост волос, имелись эскориации с точечными геморрагическими корочками. Дермографизм белый (рис. 1).

Рис. 1. Больной В., диагноз: первичная лимфома кожи, грибовидный микоз, IIA стадия (T2N1M0B0)

После верификации диагноза двумя методами – КЛСМ и гистохимическим (рис. 2 и 3) больной был направлен на лечение к гематологу.

Рис. 2. Тот же больной. На уровне дермо-эпидермального соединения наблюдаются: дезорганизация клеточной структуры эпидермиса (окружность красного цвета), симптом «потока», что выражается в фокальном осевом удлинении кератиноцитов (прямоугольники красного цвета); атипичные лимфоциты (окружности желтого цвета) в виде светлых рефракtilных клеток (А), имеющих церебриформные ядра (Б). Изображение КЛСМ (А) и горизонтальный парафиновый срез, окрашенный гематоксилином, ув. 630 (Б)

Рис. 3. Тот же больной. Наличие активированных лимфоцитов в сосочках дермы, базальном и шиповатом слоях эпидермиса, формирование микроабсцесса Потрие (окружность желтого цвета). Изображение КЛСМ (А) и горизонтальный парафиновый срез, ИФТ, CD3, ув. 400 (Б)

Заключение. Несмотря на постоянное совершенствование методов диагностики, верификация ранних стадий ГМ нередко представляет значительные трудности. Метод КЛСМ может быть успешно реализован в качестве предварительной диагностики при подозрении на ГМ, поскольку позволяет без нарушения целостности кожного покрова в короткий промежуток времени выявить специфические патоморфологические признаки изменения цитоархитектоники эпидермиса и дермы (выявление ати-

пичных лимфоцитов на уровне дермо-эпидермального соединения и в эпидермисе, формирование микроабсцессов Потрие, эпидермальная деструкция), сопоставимые с аналогичными признаками при гистологических исследованиях биоптата кожи. Метод КЛСМ также является перспективным инструментом для оптимального выбора места проведения биопсии у пациентов с множественными поражениями кожи.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/References

1. Вольф К., Голдсмит Л. А., Кац С. И. Дерматология Фицпатрика в клинической практике. М.: Изд. Панфилова, БИНОМ, 2012. [Volf K., Goldsmit L. A., Kats S. I. *Dermatology Fitzpatrick v klinicheskoy praktike*. Moscow: «Izd. Panfilova, BINOM»; 2012. (In Russ.)].
2. Малишевская Н. П., Кохан М. М., Соколова А. В., Куклин И. А., Сафонова Г. Д. [и др.]. Дерматоонкология (злокачественные новообразования кожи, первичные лимфомы кожи). Екатеринбург: Изд. Урал. ун-та, 2016. [Malishevskaya N. P., Kokhan M. M., Sokolova A. V., Kuklin I. A., Safonova G. D. [et al.]. *Dermatoonkologiya (zlokachestvennye novoobrazovaniya kozhi, pervichnye limfomy kozhi)*. Yekaterinburg: «Izd. Ural. Un-ta»; 2016. (In Russ.)].
3. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. М.: Деловой экспресс, 2016. [Federalnye klinicheskiye rekomendatsii. *Dermatovenerologiya 2015: Bolezni kozhi. Infektsii, peredavayemye polovym putem* – Federal clinical guidelines. *Dermatology 2015: diseases of the skin. Of sexually transmitted infections*. Moscow: «Delovoy ekspress»; 2016. (In Russ.)].
4. Кунгуров Н. В., Кохан М. М., Куклин И. А., Римар О. Г. О совершенствовании оказания специализированной медицинской помощи больным злокачественными лимфомами кожи. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2010;(3):4-11. [Kungurov N. V., Kokhan M. M., Kuklin I. A., Rimar O. G. About the improving of the provision of specialized medical care to patients with malignant skin lymphomas. *Vestnik dermatologii i venerologii*. – *Bulletin of dermatology and venereology*. 2010;(3):4-11. (In Russ.)].
5. Олисова О. Ю., Смирнов К. В., Грекова Е. В. Комбинация ПУВА-терапии с интерфероном А у больных грибовидным микозом. *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2017;20(3):132-139. [Olisova O. Yu., Smirnov K. V., Grekova Ye. V. The combination of PUVA therapy with interferon A in patients with mycosis fungoides. *Rosysky zhurnal kozhnykh i venericheskikh bolezney*. – *Russian journal of skin and venereal diseases*. 2017;20(3):132-139. (In Russ.)].
6. Сафонова Г. Д., Кохан М. М., Зильберберг Н. В., Римар О. Г., Куклин И. А. Оптимизация диагностики и перспективы патогенетических исследований первичных лимфом кожи (обзор литературы). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014;12(2):264-268. [Safonova G. D., Kokhan M. M., Zilberberg N. V., Rimar O. G., Kuklin I. A. Optimization of diagnostics and prospects of pathogenetic studies of primary skin lymphomas (literature review). *Mezhdunarodny zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy*. – *International journal of applied and fundamental research*. 2014;12(2):264-268. (In Russ.)].
7. Kelati A., Gallouj S., Tahiri L., Harmouche T., Mernissi F. Z. Defining the mimics and clinico-histological diagnosis criteria for mycosis fungoides to minimize. *Int. J. Womens Dermatol*. 2017;3(2):100-106.
8. Волков А. И., Фриго Н. В., Знаменская Л. Ф., Катунина О. Р. Применение конфокальной лазерной сканирующей микроскопии в биологии и медицине. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2014;(1):17-24. [Volkov A. I., Frigo N. V., Znamenskaya L. F., Katunina O. R. The use of confocal laser scanning microscopy in biology and medicine. *Vestnik dermatologii i venerologii*. – *Bulletin of dermatology and venereology*. 2014;(1):17-24. (In Russ.)].
9. Кубанова А. А., Кубанов А. А., Смольяникова В. А., Грибанов Н. В., Махакова Ю. Б. Диагностическая значимость метода конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2015;(3):68-74. [Kubanov A. A., Kubanov A. A., Smolyannikova V. A., Gribanov N. V., Mahakova Yu. B. Diagnostic value of the method of confocal laser scanning microscopy in vivo. *Vestnik dermatologii i venerologii*. – *Bulletin of dermatology and venereology*. 2015;(3):68-74. (In Russ.)].
10. Li W., Dai H., Li Z., Xu Ai-E. Reflectance confocal microscopy for the characterization of mycosis fungoides and correlation with histology: a pilot study. *Skin Res. Technol*. 2013;19(3):352-355. <https://doi.org/10.1111/srt.12049>
11. Mancebo S. E., Cordova M., Myskowski P. L., Flores E. S., Busam K. [et al.]. Reflectance confocal microscopy features of mycosis fungoides and Sézary syndrome: correlation with histopathologic and T-cell receptor rearrangement studies. *J. Cutan. Pathol*. 2016;43(6):505-515. <https://doi.org/10.1111/cup.12708>.

Сведения об авторах:

Куклин Игорь Александрович, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник научного клинического отдела дерматологии; тел.: 89122619777; e-mail: kuklin71@mail.ru

Кохан Муза Михайловна, заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующая научным клиническим отделом; тел.: (8343)2107717; e-mail: mkokhan@yandex.ru

Зильберберг Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора; тел.: (8343)2189570; e-mail: nauka-urnii@mail.ru

Сафонова Галина Дмитриевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научного экспериментально-лабораторного отдела; тел.: (8343)2189569; e-mail: galdm@mail.ru

Топычанова Елизавета Павловна, кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник научного клинического отдела; тел.: (8343)2107717; e-mail: realjam@mail.ru