

Г. І. Макуріна, М. М. Баударбекова

## Особенности активности iNOS у вогнищах ураженої шкіри хворих на псоріаз із супутньою артеріальною гіпертензією

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** iNOS, імуногістохімія, псоріаз, артеріальна гіпертензія.

**Мета роботи** – виявити особливості активності синтази оксиду азоту під час імуногістохімічного дослідження зразків шкіри хворих на псоріаз і супутню артеріальну гіпертензію.

**Матеріали та методи.** Зразки для імуногістохімічного дослідження брали з операційного матеріалу 40 хворих на псоріаз, із них 20 страждають на псоріаз та артеріальну гіпертензію у вигляді гіпертонічної хвороби, 20 – тільки на псоріаз, група контролю – 20 практично здорових осіб. Для діагностики основних патогістологічних процесів шкіри парафінові зрізи тканини фарбували гематоксилином та еозином. Імуногістохімічне визначення експресії маркера iNOS виконували з використанням кролячих поліклональних антитіл до iNOS.

**Результати.** Клітини шкіри здорових людей демонстрували майже невиразне забарвлення під час імуногістохімічного визначення iNOS у клітинах епідермісу та дерми. При здійсненні аналогічного дослідження фрагментів шкіри хворих на псоріаз спостерігалась велика кількість позитивно забарвлених клітин епідермісу, а саме: базального, остистого та зернистого шарів. Експресія iNOS у досліджених препаратах мала вигляд інтрацитоплазматичних блідо- й темно- коричневих гранул, котрі забезпечували гомогенне забарвлення клітин різної інтенсивності. Клітини дерми як у сосочковому, так і в сітчастому шарі демонстрували інтенсивне темно-коричневе забарвлення більшості фібробластів та імунокомпетентних клітин. Виявлено, що в зонах псоріатичного ураження шкіри хворих на псоріаз у поєднанні з гіпертонічною хворобою спостерігалось інтенсивніше та в більшій кількості клітин епідермісу та дерми імуногістохімічне забарвлення у вигляді численних інтрацитоплазматичних включень помірно- та темно-коричневого кольору.

**Висновки.** Порівнюючи рівень експресії iNOS U-критерієм Манна-Уїтні, встановлена вірогідна різниця між експресією iNOS в епідермісі при ізолюваному псоріатичному ураженні та псоріазом у поєднанні з гіпертонічною хворобою ( $p < 0,05$ ) із вірогідно вищим рівнем експресії у хворих із коморбідною патологією. У дермі шкіри пацієнтів з ізолюваним псоріазом виявлений вірогідно нижчий показник експресії iNOS порівняно зі шкірою пацієнтів, які хворі на псоріаз і гіпертонічну хворобу ( $p < 0,05$ ).

### Особенности активности iNOS в очагах поражённой кожи больных псориазом с сопутствующей артериальной гипертензией

Г. И. Макурина, М. М. Баударбекова

**Цель работы** – выявить особенности активности синтазы оксида азота при иммуногистохимическом исследовании образцов кожи пациентов с псориазом и сопутствующей артериальной гипертензией.

**Материалы и методы.** Образцы для иммуногистохимического исследования брали из операционного материала 40 больных псориазом, среди которых 20 страдают псориазом и артериальной гипертензией в виде гипертонической болезни, 20 – только псориазом, группа контроля – 20 практически здоровых лиц. Для диагностики основных патогистологических процессов кожи парафиновые срезы ткани окрашивали гематоксилином и еозином. Иммуногистохимическое определение экспрессии маркера iNOS проводилось с использованием кроличьих поликлональных антител к iNOS.

**Результаты.** Клетки кожи здоровых людей демонстрировали почти невыразительную окраску при проведении иммуногистохимического определения iNOS в клетках эпидермиса и дермы. При проведении аналогичного исследования фрагментов кожи больных псориазом наблюдалась большое количество положительно окрашенных клеток эпидермиса, а именно: базального, остистого и зернистого слоёв. Экспрессия iNOS в исследованных препаратах выглядела как интрацитоплазматические бледно- и тёмно-коричневые гранулы, которые обеспечивали гомогенное окрашивание клеток различной интенсивности. Клетки дермы как в сосочковом, так и в сетчатом слое демонстрировали интенсивное тёмно-коричневое окрашивание большинства фибробластов и иммунокомпетентных клеток. Выведено, что в зонах псориазического поражения кожи больных псориазом в сочетании с гипертонической болезнью наблюдалось более интенсивное и в большем количестве клеток эпидермиса и дермы иммуногистохимическое окрашивание в виде многочисленных интрацитоплазматических включений умеренно- и тёмно-коричневого цвета.

**Выводы.** При сравнении уровня экспрессии iNOS U-критерием Манна-Уитни установлена достоверная разница между экспрессией iNOS в эпидермисе при изолированном псориазическом поражении и псориазом в сочетании с гипертонической болезнью ( $p < 0,05$ ) с достоверно более высоким уровнем экспрессии у больных с коморбидной патологией. В дерме кожи пациентов с изолированным псориазом обнаружен достоверно более низкий показатель экспрессии iNOS в сравнении с кожей пациентов, страдающих псориазом и гипертонической болезнью ( $p < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** iNOS, иммуногистохимия, псориаз, артериальная гипертензия.

**Патология.** – 2016. – № 2 (37). – С. 40–46

### Features of iNOS activity in the skin lesions of patients with psoriasis and concomitant hypertension

G. I. Makurina, M. M. Baudarbekova

**Objective.** To identify the features of the activity of nitric oxide synthase by immunohistochemical study of skin samples in patients with psoriasis and concomitant hypertension.

**Materials and methods.** Specimens for immunohistochemical studies were taken from the surgical specimens of 40 psoriasis patients, including 20 with psoriasis and essential hypertension, 20 only with psoriasis, the control group consisted of 20 healthy individuals. For the diagnosis of the basic processes in the skin histopathological paraffin tissue sections were stained with hematoxylin and eosin. Immunohistochemical determination of iNOS marker expression was performed using rabbit polyclonal antibodies to iNOS.

**Results.** Healthy skin cells showed almost no expressive staining during immunohistochemical determination of iNOS in the cells of the epidermis and dermis. When conducting similar studies of skin fragments of psoriasis patients a large number of positively stained cells in the epidermis, namely the basal, spinous and granular layers, were observed. Expression of iNOS in the investigated preparations looked as intracytoplasmic light and dark brown granules, which provided a homogeneous staining of cells of varying intensity. Cells of dermis in the papillary and reticular layer showed intense dark brown color of the majority of immune cells and fibroblasts. It was revealed that in the areas of skin lesions in patients with psoriasis and hypertension more cells and more intense immunohistochemical staining of the epidermis and dermis in the form of numerous moderate and dark brown intracytoplasmic inclusions were observed.

**Conclusions.** When comparing the level of iNOS expression by U-Mann-Whitney test, a significant difference between the expression of iNOS in the epidermis in isolated psoriatic lesions and psoriasis in combination with hypertension ( $p < 0.05$ ) with significantly higher levels of expression in patients with comorbid disorders was established. In the dermis of the skin in patients with isolated psoriasis significantly lower iNOS expression was found in comparison with the psoriasis and hypertension patients skin ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** iNOS, Immunohistochemistry, Psoriasis, Hypertension.

*Pathologia 2016; № 2 (37): 40–46*

Оксид азоту (NO) є важливим фактором, який сприяє багатьом фізіологічним і патологічним процесам, що перебігають в організмі людини. Він забезпечує вазодилататорний, протимікробний, протипухлинний ефекти, контроль проліферативної активності клітин (кератиноцитів, гладком'язових клітин судин, фібробластів) [2]. Крім того, відома пошкоджувальна дія оксиду азоту, котра є результатом інгібування деяких ферментів, порушення структури ДНК, індукції процесів перекисного окислення ліпідів, зниження антиоксидантного потенціалу клітин, підвищення їхньої чутливості до радіації, алкілувальних агентів та токсичних іонів металів [3].

Продукція оксиду азоту відбувається в різних клітинах організму людини: в ендотеліоцитах, мезангіоцитах, міоцитах, клітинах крові, фібробластах, нейронах, у тому числі й у клітинах шкіри. Доведено, що експресія NO спостерігається у великій кількості резидентних клітин і клітин запалення в результаті окислення амінокислоти L-аргініну до L-цитруліну за допомогою ферменту NO-синтази (NOS), яка має три ізоформи: індукцибельну (iNOS) і дві конститутивні – нейрональну (nNOS) та ендотеліальну (eNOS) [8].

Відомо, що ці конститутивні форми NOS постійно присутні у клітинах шкіри. У кератиноцитах епідермісу в нормі постійно відбувається синтез нейрональної ізоформи, а фібробласти дерми, своєю чергою, синтезують ендотеліальну лізоформу eNOS. Індукцибельна NOS (iNOS, II тип) швидко експресується під впливом бактерійних продуктів (бактерійного ліпополісахариду), прозапальних цитокінів IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  й активних форм кисню в імунних, епітеліальних, ендотеліальних, гладком'язових та інших клітинах, забезпечуючи синтез значно більшої кількості NO, ніж конститутивні ізоформи (О. В. Синяченко, Т. В. Звягіна, 2001). Активність iNOS не залежить від присутності кальцію. Основна функція оксиду азоту, який є продуктом діяльності синтази, – участь в імунних процесах, таких як антипатогенні реакції, неспецифічна цитотоксичність, протипухлинний

захист, відторгнення трансплантата тощо. У нормі iNOS практично не виявляється у клітинах.

Активція iNOS здійснюється на рівні транскрипції та забезпечує в тисячі раз більшу продукцію NO порівняно з конститутивними NOS. Високі концентрації цього метаболіту беруть участь у протипухлинному, антимікробному захисті, впливають на еозинофільне запалення та утворення вільних радикалів [4,11].

Доведено, що клітини організму людини не мають рецепторів до NO, які б забезпечили його ефекти [4]. Цей метаболіт може впливати прямо як біологічний медіатор або побічно, утворюючи реактивні форми азоту та кисню. Прямий шлях головним чином заснований на взаємодії NO й гемму: вони містять білки: гуанілатциклаза, оксигемоглобін, цитохром P-450. Такий механізм дії забезпечується роботою конститутивних форм NOS. Непрямий шлях дії NO реалізується при високих концентраціях оксиду азоту, який утворюється за допомогою iNOS, при цьому утворюються нітрозотіоли, пероксинітрит, індукується перекисне окислення ліпідів, пошкоджується ланцюг ДНК [8,11].

Відомо, що епідермальна гіперпроліферація при псоріазі є наслідком порушення балансу між зростанням і диференціюванням кератиноцитів. Як потенційний регулятор цього процесу розглядається NO, але однозначно оцінити наявні наукові дані щодо впливу NO на гіперпроліферацію кератиноцитів на сьогодні не видається можливим [13].

Результати, що отримані G. Neetata та ін. (2005), А. М. Біловол (2010), демонструють: рівень NO в сироватці крові хворих на псоріаз корелює з активністю запального процесу в шкірі. Ця ж група вчених встановила, що NO стимулює продукцію ендотеліального фактора росту епітеліальними клітинами шкіри, що сприяє ангіогенезу та підвищеній проліферації кератиноцитів [1,9].

Водночас О. Г. Суколіна (2006) вказує, що вміст NO в сироватці крові значно підвищувався у хворих із тяжкими клінічними проявами захворювання [5].

Чимало авторів, які досліджували чисельність та активність рецепторів до iNOS імуногістохімічним методом при псоріатичному ураженні шкіри, дійшли висновку: експресія iNOS у вогнищах ураженої шкіри вірогідно вища, ніж у клітинах здорової шкіри [7].

В одному з досліджень (V. Krischel та ін., 1998) доведено, що, навпаки, підвищена проліферація кератиноцитів відбувається за низьких концентрацій NO. Псоріатичні кератиноцити експресують iNOS і потенційно здатні синтезувати цей метаболіт. Але точну кількість оксиду азоту, що продукується iNOS *in vivo*, визначити складно через наявність інших ізоформ NOS. Крім того, прозапальні клітини, котрі спостерігаються у вогнищах ураження, також продукують оксид азоту. D. Bruch-Gerharz та співавт. (2001) вивчили експресію аргінази, котра є субстратним конкурентом NOS, і виявили підвищену експресію аргінази-I разом із коекспресією iNOS у клітинах шкіри, що уражені псоріатичним процесом. Так, автори пояснюють низький рівень продукції NO кератиноцитами, отже і гіперкератоз шкіри при псоріазі [6]. Водночас праць, де була б описана вірогідна різниця між рівнем iNOS у клітинах епідермісу та дерми у хворих на псоріаз із супутньою гіпертонічною хворобою та рівнем iNOS при псоріазі без коморбідних станів, не має.

#### Мета роботи

Виявити особливості активності синтази оксиду азоту при імуногістохімічному дослідженні зразків шкіри хворих на псоріаз із супутньою артеріальною гіпертензією.

#### Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконували згідно з програмою сумісних наукових досліджень кафедри дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології та естетичної медицини ФПО ЗДМУ та Інституту клінічної патології ЗДМУ від 20.11.2015 р. на базі Інституту клінічної патології ЗДМУ.

Зразки для імуногістохімічного дослідження брали з операційного матеріалу 40 хворих на псоріаз, з них 20 страждають на псоріаз та артеріальну гіпертензію, 20 – тільки на псоріаз, група контролю – 20 практично здорових осіб. Хворі на псоріаз перебували на лікуванні в стаціонарі КУ «Запорізький обласний шкірно-венерологічний клінічний диспансер» ЗОР. Для вірогідності результатів до дослідження брали пацієнтів, у яких артеріальна гіпертензія представлена тільки гіпертонічною хворобою II стадії з рівнем гіпертензії 1–3 ступеня різного кардіоваскулярного ризику, без адекватної систематичної антигіпертензивної терапії.

Для патоморфологічного та імуногістохімічного дослідження фрагменти шкіри фіксували в забуференому 10 % формаліні та заливали в парафін. На прецизійному ротатійному мікромомі HM 3600 (фірми «MICROM Laborgerate GmbH», ФРН) виготовляли серійні зрізи завтовшки 4  $\mu\text{m}$ , котрі розміщували на звичайні предметні скельця (для стандартного патогістологічного фарбуван-

ня) або на адгезивні предметні скельця «SUPER FROST PLUS» фірми «DAKO», Данія (для імуногістохімічних досліджень).

Для діагностики основних патогістологічних процесів шкіри парафінові зрізи тканини фарбували гематоксином та еозином.

У мікропрепаратах, що забарвлені гематоксином та еозином, оцінювали: стан клітин зернистого шару, наявність гіпогранульозу, вираженість і морфологічну картину акантозу та паракератозу, наявність абсцесів Мунро в роговому шарі епідермісу, а також вираженість периваскулярної інфільтрації.

Імуногістохімічні дослідження з використанням моноклональних антитіл виконували в парафінових зрізах шкіри згідно зі стандартизованими протоколами, що детально викладені у відповідних керівництвах з імуногістохімії [14]. Після депарафінізації та регідратації зрізів здійснили температурне демаскування антигенів (шляхом нагрівання на водяній бані у Трис-ЕДТА буфері з рН=9,0) і пригнічували активність ендогенної пероксидази 3 % розчином перекису водню. Після інкубації з первинними антитілами виконували візуалізацію відповідних антигенів системою візуалізації DAKO EnVision+ System із діамінобензидином.

Імуногістохімічне визначення експресії маркера iNOS здійснювали з використанням кролячих поліклональних антитіл до iNOS (клон 9242-PO, «Thermo Fisher Scientific Inc.», США).

Для оцінювання експресії iNOS при псоріатичному ураженні шкіри препарати фотографували в 5 полях зору цифровою фотокамерою «Canon EOS 1000D» (Японія) в мікроскопі Axioplan 2 («CarlZeiss», ФРН) при збільшенні  $\times 200$  та аналізували з використанням програмного забезпечення ImageJ [15]. У кожному полі зору визначали умовну оптичну щільність експресії iNOS в епідермісі та дермі [16]. Обчислювали значення коефіцієнта умовної оптичної щільності розподілу в епідермісі ( $K_{\text{epi}}$ ) за формулою:

$$K_{\text{epi}} = S_{\text{epi поз.}} / S_{\text{epi заг.}}$$

(де  $S_{\text{epi поз.}}$  – оптична щільність позитивної імуногістохімічної реакції в епідермісі,  $S_{\text{epi заг.}}$  – загальна оптична щільність в епідермісі).

За тим самим принципом здійснювали обчислення коефіцієнта умовної оптичної щільності ( $K_{\text{derm}}$ ) у дермі:

$$K_{\text{derm}} = S_{\text{derm поз.}} / S_{\text{derm заг.}}$$

(де  $S_{\text{derm поз.}}$  – оптична щільність позитивної імуногістохімічної реакції в дермі,  $S_{\text{derm заг.}}$  – загальна оптична щільність у дермі).

Статистичне опрацювання результатів виконували на персональному комп'ютері за допомогою пакета аналізу у програмі Excel Microsoft Office 2013 та «Statistica® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., ліцензія № AXXR712D833214FAN5). Обчислювали медіану (Me), нижній і верхній квартилі (Q1, Q3), порівняння



дослідних груп здійснили за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Уїтні для незалежних вибірок і T-критерію Вілкоксона для порівняння залежних вибірок. Результати вважали вірогідними при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

У хворих на псоріаз під час рутинного гістологічного дослідження у шкірі превалювали такі зміни: в епідермісі здебільшого спостерігався гіперкератоз, зливний паракератоз у роговому шарі, а також наявність нейтрофілів у рогових масах. У невеликій кількості випадків нейтрофіли формували мікроабсцеси Мунро, які виглядали як скупчення нетипових нейтрофілів із гіперхроматиновими веретеноподібними ядрами. Водночас у зернистому шарі спостерігалась тенденція до зникнення зернистого шару або до гіпогранулозу. У двох випадках виявлений клиновидний гіпергранулоз, що може бути пов'язано з екскоріацією ураження пацієнтами.

У багатьох випадках в епідермісі спостерігали зміни, що характерні для псоріатичного ураження, а саме: уніформний гребнеподібний акантоз (ступінь якого визначався вираженістю проліферації базального шару, формою *reteridgess*), а також стоншення епідермісу в супрапапілярній зоні. У деяких випадках виявлений спонгіоз, морфологічним проявом якого було збільшення відстані між сусідніми кератиноцитами в базальному та остистому шарах. Ступінь спонгіозу в таких випадках визначався як незначний.

У папілярній дермі спостерігалась підвищена кількість закручених розширених судин, також периваскулярно виявлено незначну кількість лімфоцитарного інфільтрату, щільність якого визначалась від незначної до помірної. Еозинофілів в інфільтраті не виявили.

Під час імуногістохімічного дослідження фрагментів шкіри хворих на псоріаз спостерігали велику кількість позитивно забарвлених клітин епідермісу, а саме: базального, остистого та зернистого шарів. Експресія iNOS у препаратах, що досліджували, мала вигляд інтрацитоплазматичних блідо- (рис. 1) та темно- (рис. 2) коричневих гранул, котрі забезпечували гомогенне забарвлення клітини різної інтенсивності. Клітини дерми й в сосочковому, і в сітчастому шарі демонстрували інтенсивне темно-коричнєве забарвлення більшості фібробластів та імунокомпетентних клітин.

За результатами аналізу зображень, котрі отримали, визначено, що в зонах псоріатичного ураження мінімальний коефіцієнт умовної оптичної щільності (УОЩ)  $K_{epi}$  становив 0,18 (0,451; 0,689), при цьому максимальні значення – 0,891 (0,451; 0,689). Медіана дорівнювала 0,567 (0,451; 0,689) (рис. 3).

У зонах спонгіозних змін епідермісу під час імуногістохімічного дослідження спостерігали переважно інтенсивніше темно-коричнєве забарвлення клітин.

Під час імуногістохімічного дослідження рівня iNOS у дермі спостерігали інтенсивну експресію у фібробластах, ендотеліальних і гладком'язових клітинах

судин, деяких імунокомпетентних клітинах. У клітинах дерми хворих на псоріаз коефіцієнт позитивно забарвлених клітин  $K_{derm}$  був значно нижчий, ніж в епідермісі – від 0,1 (0,136; 0,221) до 0,364 (0,136; 0,221). Медіана становила 0,179 (0,136; 0,221) (рис. 4).

Клітини шкіри здорових людей демонстрували менш виразне імуногістохімічне забарвлення при імуногістохімічному визначенні iNOS у клітинах епідермісу та дерми. В епідермісі експресія iNOS визначалась переважно в базальному шарі (рис. 5).  $K_{epi}$  у клітинах нормального епідермісу дорівнював від 0,294 (0,294; 0,296) до 0,296 (0,294; 0,296) із медіаною 0,295 (0,294; 0,296). Клітини дерми в неураженій шкірі демонстрували  $K_{derm}$  від 0,031 (0,031; 0,07) до 0,07 (0,031; 0,07) із медіаною 0,05 (0,031; 0,07) (рис. 6).

Порівнюючи рівень експресії iNOS із використанням U-критерію Манна-Уїтні, встановили вірогідну різницю між експресією iNOS в епідермісі при псоріатичному ураженні та в епідермісі здорових ( $p=0,035$ ) із більшою експресією у хворих на псоріаз. Своєю чергою, в дермі шкіри пацієнтів, які страждають на псоріаз, також виявлена вірогідна розбіжність рівня експресії iNOS порівняно з нормою ( $p=0,023$ ). Подібні результати отримані численними авторами (D. Bruch-Gerharz, E. Rashed, A. Sirsjo) під час дослідження експресії iNOS у дермі пацієнтів, які хворі на псоріаз [7,10,13]. Підвищення рівня експресії iNOS у клітинах епідермісу та дерми при псоріазі щодо експресії її в неураженій шкірі, котра поєднується з підвищенням рівня експресії васкулоендотеліальним фактором росту VEGF, також відзначено в численних працях закордонних авторів [10,12].

Виявлено, що в зонах псоріатичного ураження шкіри хворих на псоріаз у поєднанні з гіпертонічною хворобою спостерігалось інтенсивніше імуногістохімічне забарвлення та в більшій кількості клітин епідермісу у вигляді численних інтрацитоплазматичних включень помірно- та темно-коричневого кольору (рис. 7). У цій групі мінімальний коефіцієнт УОЩ  $K_{epi}$  становив 0,492 (0,462; 0,837), при цьому максимальні значення – 0,933 (0,462; 0,837). Медіана дорівнювала 0,721 (0,462; 0,837).

У клітинах дерми хворих на псоріаз і гіпертонічну хворобу коефіцієнт позитивно забарвлених клітин  $K_{derm}$  дорівнював від 0,18 (0,146; 0,274) до 0,414 (0,146; 0,274). Медіана – 0,293 (0,146; 0,274).

Отже, порівнюючи рівень експресії iNOS U-критерієм Манна-Уїтні, встановлена вірогідна різниця між експресією iNOS в епідермісі при псоріатичному ураженні та в епідермісі хворих на псоріаз у поєднанні з гіпертонічною хворобою ( $p=0,041$ ) із вірогідно вищим рівнем експресії у хворих із коморбідною патологією. У дермі шкіри пацієнтів з ізольованим псоріазом виявлений вірогідно нижчий показник експресії iNOS порівняно зі шкірою пацієнтів, які хворі на псоріаз і гіпертонічну хворобу ( $p=0,03$ ). Незважаючи на те, що багатьма авторами доведений взаємозв'язок між захворюваністю на гіпертонічну хворобу та псоріаз [17–19] натепер немає робіт,



які б демонстрували вірогідну різницю вмісту iNOS в епідермісі та дермі пацієнтів, які хворі на гіпертонічну хворобу, псоріаз та ізолюваний псоріаз.

Водночас за допомогою Т-критерію Вілкоксона виявлена вірогідна різниця в експресії iNOS в епідермісі та дермі пацієнтів, які хворі на псоріаз ( $p=0,001$ ), а в

контрольних випадках вірогідної розбіжності не виявили (рис. 8).

Під час визначення зв'язку між експресією iNOS в епідермісі та дермі хворих на псоріаз із використанням рангової кореляції Спірмена кореляції між цими компартментами не виявили ( $p>0,05$ ).

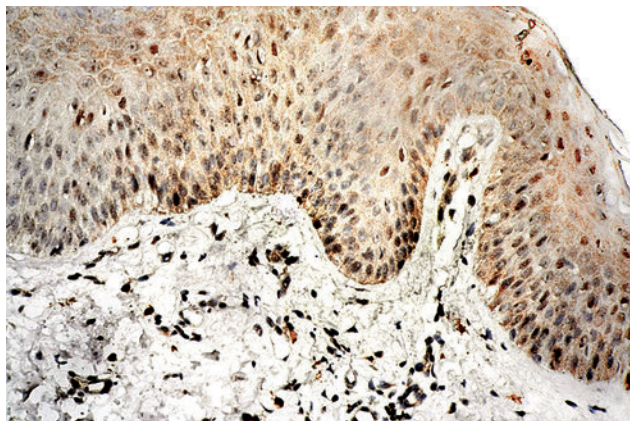


Рис. 1. Експресія iNOS у клітинах епідермісу та дерми у хворих на псоріаз. Антитіла до iNOS (клон 9242-PO), система візуалізації DAKO EnVision+ із діамінобензидином. Зб.  $\times 400$ .

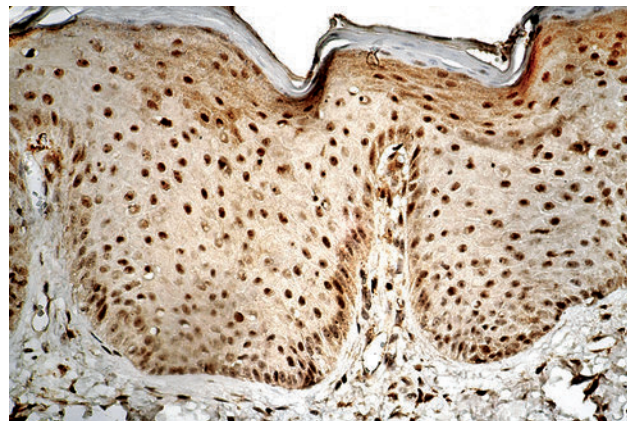


Рис. 2. Експресія iNOS у клітинах епідермісу та дерми при псоріатичних ураженнях шкіри. Антитіла до iNOS (клон 9242-PO), система візуалізації DAKO EnVision+ із діамінобензидином. Зб.  $\times 400$ .

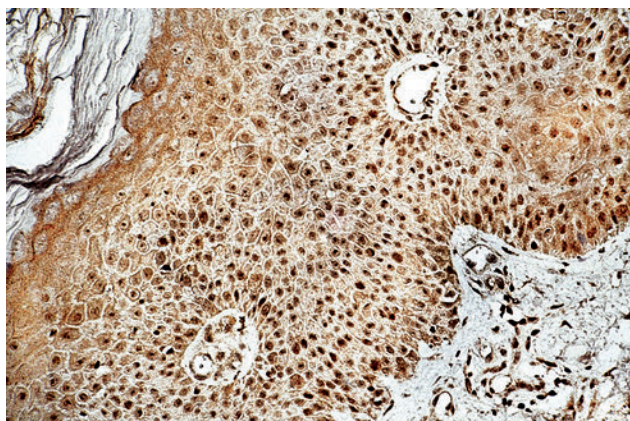


Рис. 3. Експресія iNOS у клітинах епідермісу при псоріазі. Антитіла до iNOS (клон 9242-PO), система візуалізації DAKO EnVision+ із діамінобензидином. Зб.  $\times 400$ .

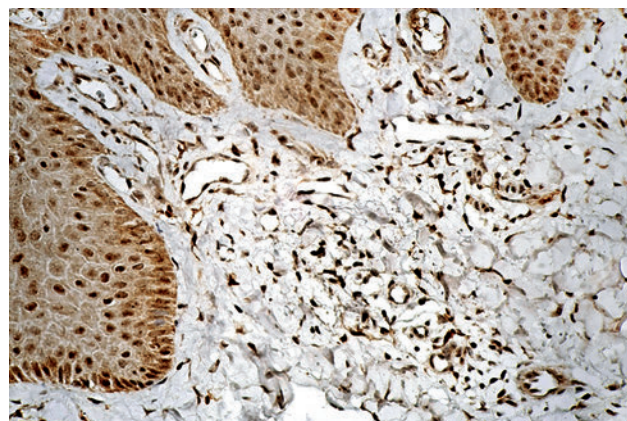


Рис. 4. Експресія iNOS у дермі при псоріазі. Антитіла до iNOS (клон 9242-PO), система візуалізації DAKO EnVision+ із діамінобензидином. Зб.  $\times 400$ .

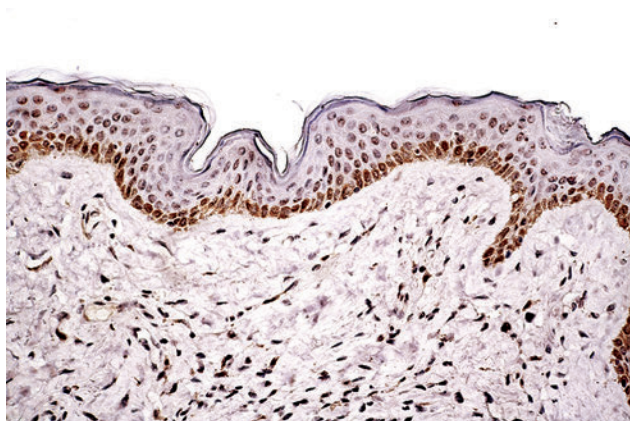


Рис. 5. Експресія iNOS у клітинах епідермісу в неуразеній шкірі. Антитіла до iNOS (клон 9242-PO), система візуалізації DAKO EnVision+ із діамінобензидином. Зб.  $\times 400$ .

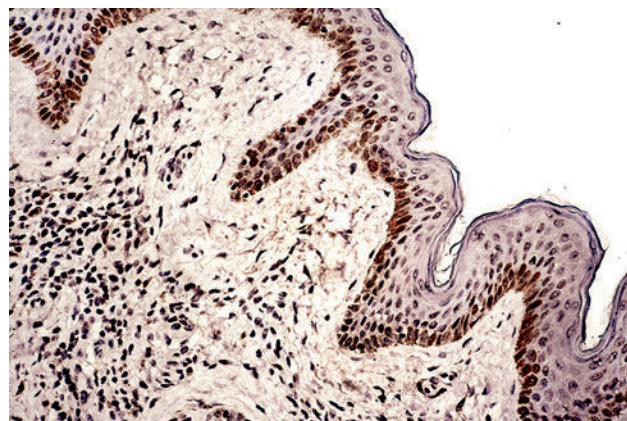


Рис. 6. Експресія iNOS у дермі в неуразеній шкірі. Антитіла до iNOS (клон 9242-PO), система візуалізації DAKO EnVision+ із діамінобензидином. Зб.  $\times 400$ .



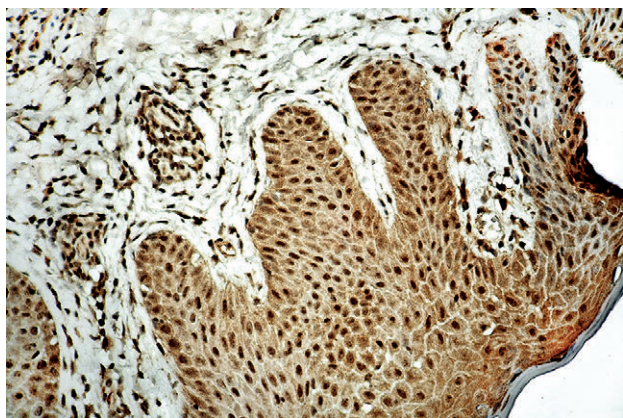


Рис. 7. Експресія iNOS в епідермісі та дермі хворого на псоріаз і гіпертонічну хворобу. Антитіла до iNOS (клон 9242-PO), система візуалізації DAKO EnVision+ із діамінобензидином. 36. х400.

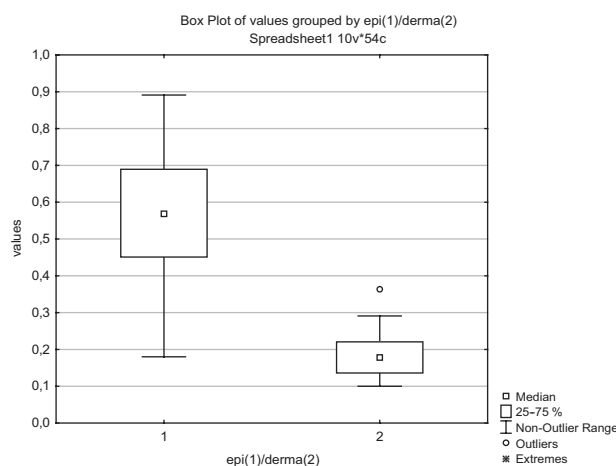


Рис. 8. Розподіл iNOS в епідермісі та дермі хворих на псоріаз.

### Висновки

1. При мікроскопії шкіри хворих на псоріаз встановили, що для псоріатично зміненої шкіри властиві такі гістологічні ознаки: гіперкератоз, зливний паракератоз у роговому шарі, наявність нейтрофілів у рогових масах, мікроабсцесів Мунро, гіпогранульозу.

2. При псоріазі в епідермальних клітинах шкіри вищачалась виразна експресія iNOS, котра була вірогідно вищою за експресію цього маркера у шкірі здорових

людей ( $p < 0,05$ ).

3. Встановлена вірогідна різниця між експресією iNOS в епідермісі та дермі, порівнюючи псоріатичне ураження та коморбідну патологію – псоріаз і гіпертонічна хвороба ( $p = 0,041$ , досліджуючи епідермальну експресію, та  $p = 0,03$ , досліджуючи різницю в дермі), з вірогідно вищим рівнем експресії у хворих на псоріаз і гіпертонічну хворобу.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

### Список літератури

- Беловол А.Н. Дисфункция сосудистого эндотелия у больных псориазом / А.Н. Беловол // Український журнал дерматології, венерології, косметології. – 2010. – №1(36). – С. 17–21.
- Метельская В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – №6. – С. 15–18.
- Метаболіти оксиду азоту в крові тварин з експериментальним аутоімунним захворюванням / О.В. Синяченко, Т.В. Звягіна, І.М. Дьяков та ін. // Український ревматологічний журнал. – 2001. – №3/4. – С. 83–85.
- Смирнова И.Ю. Роль оксида азота в развитии заболеваний кожи / И.Ю. Смирнова, Л.М. Огородова, И.А. Деев // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – Т. 8. – №4. – С. 90–94.
- Суколина О.Г. Роль оксида азота в патогенезе псориаза / О.Г. Суколина, Э.А. Баткаев // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2006. – №1. – С. 21–24.
- Arginase 1 overexpression in psoriasis. Limitation of inducible nitric oxide synthase activity as a molecular mechanism for keratinocyte hyperproliferation / D. Bruch-Gerharz, O. Schnorr, C. Suschek et. al. // American J. Pathol. – 2001. – Vol. 173. – P. 2375–2381.
- Limitation of Inducible Nitric Oxide Synthase Activity as a Molecular Mechanism for Keratinocyte Hyperproliferation / D. Bruch-Gerharz, O. Schnorr, et al. // Am J Pathol. – 2003. – Vol. 162(1). – P. 203–211.
- Cals-Grierson M.-M. Nitric oxide function in the skin / M.-M. Cals-Grierson, A.D. Ormerod // Nitricoxide. – 2004. – №10. – P. 179–193.
- A study of serum nitric oxide levels in psoriasis / N.R. Gokhale, V.A. Belgaumkar, D.P. Pandit et. al. // Indian J. Dermatol. Leprol. – 2005. – Vol. 71. – №3. – P. 198–203.
- Rashed, Hayam E. Immunohistochemical evaluation of VEGF, survivin, bcl-2 protein and iNOS in the pathogenesis of psoriasis / Hayam E. Rashed, Eman H. Abd El-Bary // Egyptian Journal of Pathology. – 2012. – Vol. 32. – P. 91–98.
- Nitric oxide in health and disease of the respiratory system / F.L. Ricciardolo, P.J. Sterk, B. Gaston et al. // Physiol. Rev. – 2004. – Vol. 84. – P. 731–765.
- Role of vascular endothelial growth factor, survivin, and inducible nitric oxide synthase expression in psoriasis: an immunohistochemical study / A. Salem, A. Nasar, A. Kandil et al. // Egypt J Dermatol Venerol. – 2014. – Vol. 34. – P. 21–26.
- Increase downexpression of inducible nitric oxide synthase in psoriatic skin and cytokine stimulated cultured keratinocytes / A. Sirsjo, M. Karlsson, A. Gidlof et al. // J. Dermatol. – 1996. – Vol. 134. – P. 643–648.
- Diagnostic Immunohistochemistry / Ed. by D.J. Dabbs. – 3rd ed. – Philadelphia : Saunders/ Elsevier, 2010. – 951 p.
- Rasband W.S. National Institutes of Health / W.S. Rasband. – Bethesda, Maryland. – 1997–2016. – Retrieved from: USA – <http://imagej.nih.gov/ij/> // Elsevier, 2010. – 951 p.
- Патент України на корисну модель № 99314 Україна, МПК (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. Спосіб фото цифрової морфометрії імуногістохімічних препаратів / В.О. Туманський, А.В. Євсєєв, І.С. Коваленко, М.Д. Зубко ; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед.ун-т. – №и 2014 14 103; заявл. 29.12.2014; опубл. 25.05.15 // Бюлетень. – №10.
- Иммунные механизмы псориаза. Новые стратегии биологической терапии / А.А. Кубанова, А.А. Кубанов, Дж.Ф. Николас, Л. Пьюиг // Вестник дерматологии и венерологии. – 2010. – №1. – С. 35–47.
- Henseler T. Disease concomitance in psoriasis / T. Henseler, A. Christophers // J. Am. Acad. Dermatol. – 1995. – Vol. 32. – P. 982–986.

19. Boehncke W.H. The 'psoriatic march': a concept of how severe psoriasis may drive cardiovascular comorbidity / W.H. Boehncke, S. Boehncke, A.M. Tobin // *Exp. Dermatol.* – 2011. – Vol. 20. – P. 303–307.

### References

- Belovol, A. N. (2010) Disfunkciya sosudistogo `endoteliya u bol'nykh psoriazom [Disfunction of vascular endothelium at patients with psoriasis]. *Ukrainskyi zhurnal dermatologii, venerologii, kosmetologii*, 1(36), 17–21. [in Ukrainian].
- Metelskaya, V. A., & Gumanova, N. G. (2005) Skринing-metod opredeleniya urovnya metabolitov oksida azota v syvorotke krovi [Screening as a method for determining the serum level of nitric oxide metabolites]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 6, 15–18. [in Russian].
- Syniachenko, O. V., Zviahina, T. V., Diakov, I. M., Hryn, V. K., Nikolenko, Yu. I., (2001) Metabolity oksydu azotu v krovi tvaryn z eksperymentalnym autoimmunym zakhvoriuvanniam [The metabolites of nitric oxide in the blood of animals with experimental autoimmune disease]. *Ukrainskyi revmatologichnyi zhurnal*, 3/4., 83–85. [in Ukrainian].
- Smirnova, I. Yu., Ogorodova, L. M., Deyev, I. A. (2009) Rol' oksida azota v razvittii zabojevanij kozhi [The role of nitric oxide in development of skin diseases]. *Voprosy sovremennoj pediatrii*, 8(4), 90–94. [in Russian].
- Sukolina, O. G., & Batkaev, E'. A. Rol' oksida azota v patogeneze psoriaza [The role of nitric oxide in the pathogenesis of psoriasis]. *Rossiiskij zhurnal kozhnykh i venericheskikh boleznej*, 1, 21–24. [in Russian].
- Bruch-Gerharz, D., Schnorr, C., Suschek, S., et al. (2001) Arginase 1 overexpression in psoriasis. Limitation of inducible nitric oxide synthase activity as a molecular mechanism for keratinocyte hyperproliferation. *Amerian J. Pathol*, 173, 2375–2381.
- Bruch-Gerharz, D., Schnorr, O., Suschek, C., Beck, K. F., Pfeilschifter, J., Ruzicka, T., & Kolb-Bachofen, V. (2003) Limitation of Inducible Nitric Oxide Synthase Activity as a Molecular Mechanism for Keratinocyte Hyperproliferation. *Am J Pathol*, 162(1), 203–211. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63811-4.
- Cals-Grierson, M.-M., & Ormerod, A. D. (2004) Nitric oxide function in the skin. *Nitricoxide*, 10, 179–193. doi: 10.1016/j.niox.2004.04.005.
- Gokhale, N. R., Belgaumkar, V. A., Pandit, D. P., Deshpande, S., & Damle, D. K. (2005) A study of serum nitric oxide levels in psoriasis. *Indian J. DermatolVenerol. Leprol.*, 71(3), 198–203. doi: 10.4103/0378-6233.16232.
- Rashed Hayam, E., & Abd El-Bary, Eman H. (2012) Immunohistochemical evaluation of VEGF, survivin, bcl-2 protein and iNOS in the pathogenesis of psoriasis. *Egyptian Journal of Pathology*, 32, 91–98. doi: 10.1097/01.XEJ.0000417556.36570.93.
- Ricciardolo, F. L., Sterk, P. J., Gaston, B., & Folkerts, G. (2004) Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol. Rev*, 84, 731–765. doi: 10.1152/physrev.00034.2003.
- Salem, A., Nasar, A., Kandil, A., Farag, R., & El-Kashesy, K. (2014) Role of vascular endothelial growth factor, survivin, and inducible nitric oxide synthase expression in psoriasis: an immunohistochemical study. *Egypt J Dermatol Venerol*, 34, 21–26. doi: 10.4103/1110-6530.137262.
- Sirsjo, A., Karlsson, M., Gidlof, A., Rollman, O., & Törmä, H. (1996) Increase dexpression of inducible nitric oxide synthase in psoriatic skin and cytokine stimulated cultured keratinocytes. *J. Dermatol*, 134, 643–648. doi: 10.1111/j.1365-2133.1996.tb06963.x.
- Dabbs D. J. (Ed.) (2010) Diagnostic Immunohistochemistry. Philadelphia: Saunders/Elsevier.
- Rasband, W.S. (1997–2016) National Institutes of Health. Bethesda, Maryland. – 1997–2016. Retrived from <http://imagej.nih.gov/ij/>.
- Tumanskyi, V. O., Yevsieiev, A. V., Kovalenko, I. S., Zubko, M. D. (2015) Patent Ukrainy na korynsnu model №99314 Ukraina, MPK (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. Sposib foto tsyfrovoy morfometrii imunohistokhimichnykh preparativ [Ukraine Utility model patent number 99314, MPK (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. The Method of digital photo morphometry of immunohistochemical preparations]. *Biuletyn*, 10. [in Ukrainian].
- Kubanova, A. A., Nikolas, J. F., Puig L., Prince J., Katunina, O. R., & Znamenskaya, L. F. (2010) Immunnye mekhanizmy psoriaza. Novye strategii biologicheskoy terapii [Immune mechanisms of psoriasis. New strategies of biotherapy]. *Vestnik dermatologii i venerologii*, 1, 35–47. [in Russian].
- Henseler, T., & Christophers, A. (1995) Disease concomitance in psoriasis. *J. Am. Acad. Dermatol*, 32, 982–986. doi: 10.1016/0190-9622(95)91336-X.
- Boehncke, W. H., Boehncke, S., Tobin, A. M., & Kirby, B. (2011) The 'psoriatic march': a concept of how severe psoriasis may drive cardiovascular comorbidity. *Exp. Dermatol*, 20, 303–307. doi: 10.1111/j.1600-0625.2011.01261.x.

### Відомості про авторів:

Макуріна Г. І., канд. мед. наук, доцент каф. дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології та естетичної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, E-mail: makurina.g@yandex.ua.

Баударбекова М. М., канд. мед. наук, доцент кафедри патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет.

### Сведения об авторах:

Макуріна Г. И., канд. мед. наук, доцент каф. дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: makurina.g@yandex.ua.

Баударбекова М. М., канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет.

### Information about authors:

Makurina G. I., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Dermatovenerology and Cosmetology with the Course of Dermatovenerology and Aesthetic Medicine of the Post-graduate Education Faculty, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: makurina.g@yandex.ua.

Baudarbekova M. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University.

Надійшла в редакцію 02.08.2016 р.