

Е.В. Стефаненко, О.Д. Мяделец, О.А. Кухновец и В.О. Мяделец

КЛЕТКИ ЛАНГЕРГАНСА МЕЖФолликулярного Эпидермиса и Эпителия Наружного Влагалища Волосяных Фолликулов Кожи Человека в Норме и при Холодовой Смерти

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. О.Д. Мяделец) Витебского государственного медицинского университета; Управление государственной службы медицинских судебных экспертиз по Витебской области (нач. — доц. О. А. Кухновец), Белоруссия

Исследована кожа, полученная от 50 трупов людей обоего пола, погибших в результате переохлаждения и вскрытых в Управлении государственной службы медицинских судебных экспертиз по Витебской области (Белоруссия). В качестве контроля использовали кожу 10 трупов людей, погибших в результате дорожно-транспортных происшествий и от других причин, не связанных с действием холода, а также кожу 10 здоровых людей-добровольцев. Клетки Лангерганса (КЛ) эпидермиса и эпителия волосяных фолликулов изучали с помощью реакции на АТФазу. Подробно описано строение КЛ в условиях нормы. Показано, что эти клетки локализованы в супрабазальном слое эпидермиса и эпителия наружного корневого влагалища волосяных фолликулов. Они контактируют друг с другом при помощи длинных отростков. При холодовой смерти в эпидермисе и в эпителии волосяных фолликулов резко уменьшается количество КЛ с появлением в них дегенеративных изменений.

Ключевые слова: *кожа, клетки Лангерганса, холодовая смерть.*

Клетки Лангерганса (КЛ) представляют собой первую линию защиты организма на пути антигенов внешней среды. Эти клетки участвуют в иммунных реакциях организма, развешивающихся как в коже, так и в периферических органах иммунной системы [1, 2, 6, 7, 9, 13]. Жизненный цикл КЛ кожи состоит из двух фаз [6, 7, 13]. В первую фазу они находятся в эпидермисе и осуществляют фагоцитоз антигенов, которые затем могут переносить в регионарные лимфатические узлы. В коже КЛ могут захватывать антигены не только из окружающей среды, но и из кровотока, а также способны мигрировать к местам инвазии микроорганизмов, опухолевого роста или некроза тканей. После захвата антигенов КЛ под влиянием микроокружения созревают, превращаются в зрелые клетки, перестают захватывать новые антигены, но подвергают обработке фагоцитированные ранее и передают информацию о них Т-лимфоцитам, индуцируя иммунный ответ. После миграции в лимфатические узлы КЛ заселяют Т-зоны, в значительной степени утрачивают фагоцитарную активность, но приобретают способность активировать «наивные» Т-лимфоциты-хелперы [2, 6, 10].

Существуют сведения об участии КЛ в структурно-функциональной организации эпидермиса, в частности, в построении эпидермальных пролиферативных единиц. Им приписывается также эндокринная функция [9]. Следовательно, данные клетки играют важную роль в функциональных отправлениях кожи. Ранее было показано, что функциональное состояние КЛ существенно

изменяется при ряде патологических состояний организма, имеется положительная корреляция их патологических изменений со степенью тяжести соматических заболеваний. Было предложено проводить оценку состояния данных клеток с диагностической и прогностической целью [5].

Входя в состав эпидермиса, КЛ одними из первых реагируют на различные внешние воздействия. В экспериментах на животных было показано, что число этих клеток существенно снижается при воздействии на организм общей гипотермии, ионизирующей радиации, лазерного облучения и других экстремальных факторов внешней среды [4, 5, 8, 10]. В литературе отсутствуют сведения об изменении КЛ межфолликулярного эпидермиса и эпителия волосяных фолликулов при холодовой смерти человека.

Цель настоящего исследования — изучение изменений в популяции КЛ эпидермиса и эпителия наружных корневых влагалищ волосяных фолликулов у людей при смертельной гипотермии.

Материал и методы. Исследована кожа 105 трупов людей обоего пола в возрасте от 19 до 83 лет, погибших в результате переохлаждения и вскрытых в морге Управления государственной службы медицинских судебных экспертиз по Витебской области на 1–2-е сутки после смерти. Кожу вместе с подкожной жировой клетчаткой брали из межлопаточной и эпигастральной области в холодное время года (ноябрь — март) примерно в одно и то же время суток (9.00–10.00). Температура окружающей среды на момент обнаружения трупа была от –5 до +1,1 °С, а ректальная температура трупов колебалась от 9,6 до 19 °С. При первич-

ном осмотре были обнаружены макроскопические признаки холодовой смерти: «гусяная кожа», холодовая эритема. У мужчин имели место признаки Пупарева (втягивание яичек в паховые каналы) и Десятова (оголенная и отечная головка полового члена). Концентрация алкоголя в крови и моче колебалась от 1,0 до 4,5%. С момента обнаружения до вскрытия и взятия материала трупы находились в морге при комнатной температуре. Для контроля использовали кожу от 10 трупов людей, погибших в результате ДТП и от других причин, не связанных с действием холода (дорожно-транспортные травмы, скоропостижная смерть, повешение и др.), а также от 20 здоровых людей-добровольцев. Условия получения материала от трупов в данном случае (время года и суток, время взятия материала, прошедшее с момента наступления смерти и др.) примерно соответствовали описанным выше. У добровольцев участок кожи площадью 0,5 см² брали из области предплечья путем трепанобиопсии под местным обезболиванием. Образцы кожи замораживали в жидком азоте и готовили криостатные срезы толщиной 15 мкм. На одно предметное стекло от каждого объекта исследования монтировали 5 срезов. В этих срезах КЛ выявляли с помощью реакции на АТФазу по методу Вакстейна — Мейзеля

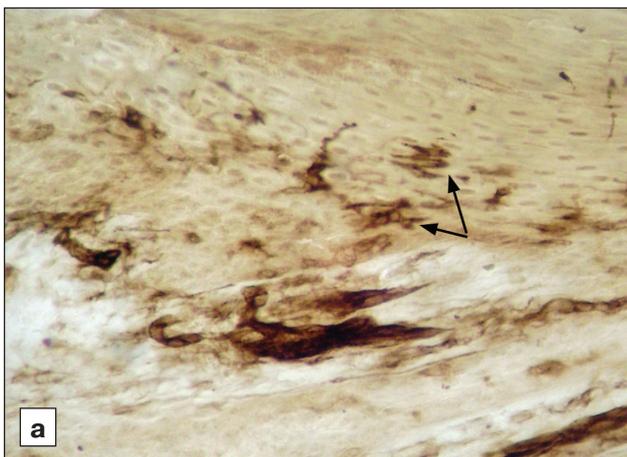


Рис. 1. Клетки Лангерганса (КЛ) межфолликулярного эпидермиса и эпителия наружного корневого влагалища волосяных фолликулов человека в контроле.

а — в межфолликулярном эпидермисе КЛ располагаются в глубоком отделе шиповатого слоя (стрелки); б — высокое содержание КЛ в эпителии волосяной воронки. Реакция на АТФазу. Об. 40, ок. 10.

в модификации P.G. Robins и D.R. Brandon [12]. Для оценки качественных изменений КЛ обращали внимание на удаление их от базальной мембраны, равномерность распространения в эпидермисе, форму, длину отростков, наличие анастомозов отростков, а также на степень деструктивных изменений КЛ. Под микроскопом Микмед-5 (ЛОМО, Россия) при увеличении 400 во всех исследуемых объектах в межфолликулярном эпидермисе и наружном корневом влагалище волосяных фолликулов подсчитывали количество КЛ и их отростков. Для этого использовали морфометрическую сетку Автандилова, подсчитывая указанные структуры вначале в большом квадрате, имеющем площадь $1/52$ мм², а потом делали перерасчет на 1 мм² площади среза, умножая полученные данные на 52. Активность АТФазы в перикарионах КЛ выражали в условных единицах. Полученные цифровые данные обрабатывали статистически с использованием непараметрического U-критерия Вилкоксона — Манна — Уитни. Для обзорной микроскопии парафиновые срезы окрашивали гематоксилином — эозином.

Результаты исследования. В контроле КЛ в межфолликулярном эпидермисе чаще располагались в глубокой части шиповатого слоя (рис. 1, а). Они имели отростчатую форму и при помощи отростков часто контактировали с соседними КЛ, формируя сеть. Отростки КЛ направлялись не только в стороны, к соседним клеткам, но и к поверхности эпидермиса, подходя к клеткам зернистого слоя. Иногда они проникали и в этот слой, но чаще лишь вступали в контакт с клетками его нижнего ряда. Среднее количество КЛ составляло 645,8/мм² в коже спины и 625,0/мм² — в коже живота. Примерно таким же (697,3 клеток на 1 мм²) было число этих клеток в коже предплечья у добровольцев.

В ряде случаев отростки КЛ направлялись в дерму и заканчивались контактами на капиллярах сосочкового слоя. Из дермы к телам клеток направлялись тонкие нервные волокна и вступали с ними в контакт, формируя на конце пуговчатые утолщения. Активность АТФазы в КЛ составляла 3,1 усл. ед. как в перикарионе, так и в отростках. В центре тела клетки наблюдалось просветление, соответствующее местонахождению ядра.

В эпителии наружного корневого влагалища волосяного фолликула КЛ в условиях нормы располагались в базальном, в глубоких частях шиповатого слоя (см. рис. 1, б). По строению они аналогичны КЛ межфолликулярного эпидермиса. Их количество составляло 456,4/мм² в коже живота и 401,9/мм² — в коже спины ($P \leq 0,05$). Активность фермента в телах КЛ была высокой (2,9 усл. ед.), однако в части клеток, удаленных от базальной мембраны, она иногда была ниже, чем в клетках, расположенных базально и супрабазально (2,3 усл. ед.). В клетках ядро было четко контурировано. Отростки КЛ иногда проникали в

дерму и вступали в контакт с капиллярами. С КЛ контактировали проникающие в наружное корневое влагалище нервные волокна.

КЛ кожи трупов людей, погибших от общей гипотермии организма, претерпевали изменения, которые заключались в резком уменьшении их числа. Клетки практически полностью теряли отростки, округлялись и имели практически максимальную активность АТФазы в теле. При этом отмечалось окрашивание продуктом реакции всего тела клетки, в том числе и ядра. Клеточные тела располагались на разных уровнях эпидермального пласта – от базального слоя до верхней части шиповатого слоя. На значительных участках эпидермиса КЛ отсутствовали полностью. Вместо них выявлялась мелкая пылевидная зернистость коричневого или черного цвета, локализующаяся на уровне базального слоя и глубокой части шиповатого слоя. В отдельных участках эпидермиса, в основном на уровне базального слоя, обнаруживались нечеткие, расплывчатые структуры неопределенной формы, окрашенные в темно-коричневый цвет (рис. 2, а). Иногда рядом с ними имелись мелкие оптически прозрачные участки. Подсчет морфологически различимых КЛ показал, что в коже живота их число составляло $67,3/\text{мм}^2$, а в коже спины — $59,9/\text{мм}^2$. При этом различия между показателями числа клеток в эпидермисе кожи контрольных людей и погибших от охлаждения были статистически значимыми ($P < 0,001$), тогда как различия между количеством их в эпидермисе кожи живота и спины у людей, погибших от общей гипотермии, незначимы.

КЛ волосяных фолликулов кожи людей, погибших от общей гипотермии, претерпевали изменения, аналогичные таковым в этих клетках в межфолликулярном эпидермисе. Происходило существенное уменьшение количества КЛ, вплоть до их полного исчезновения и образования мелкозернистого материала темно-коричневого или черного цвета (см. рис. 2, б). Сохранившиеся клетки практически полностью теряли отростки, а тело их окрашивалось интенсивно, без просветления на месте ядра. Изменения в коже спины и эпигастрия были однотипными.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, КЛ в коже локализуются не только в межфолликулярном эпидермисе, но и в эпителии наружного корневого влагалища. Соединяясь своими многочисленными отростками, они формируют интраэпителиальную сеть, способную улавливать антигены внешней среды. Эти клетки при помощи отростков взаимодействуют с капиллярным руслом дермы, что может отражать как факт миграции клеток в эпидермис (из эпидермиса), так и возможность секреции веществ в кровь, поскольку имеются указания на эндокринную функцию КЛ [9]. С другой стороны, имеется

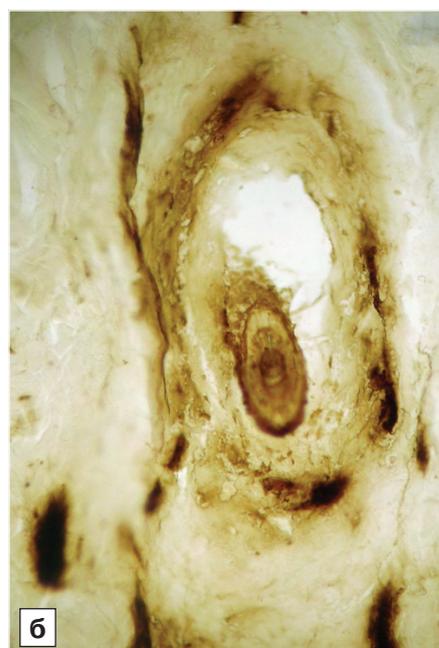
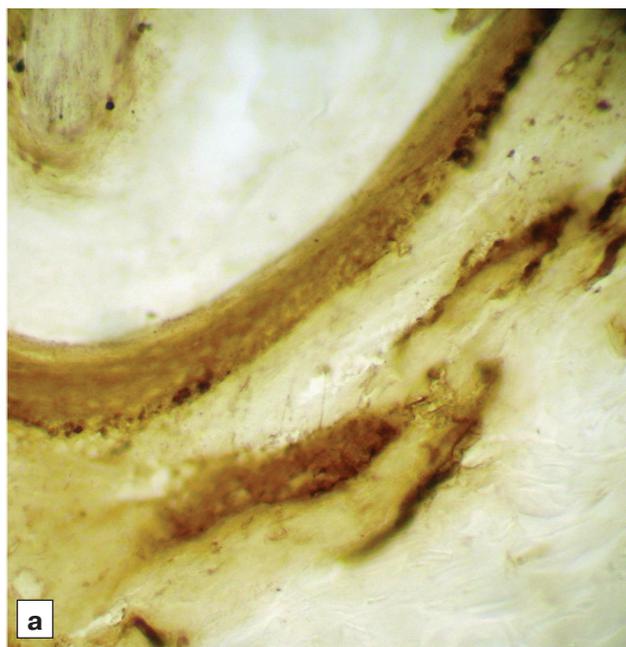


Рис. 2. Клетки Лангерганса (КЛ) межфолликулярного эпидермиса и эпителия наружного корневого влагалища кожи людей, погибших от общего охлаждения.

а — разрушение КЛ. Мелкая пылевидная зернистость на уровне базального слоя и нижних рядов шиповатого слоя; нечеткие, расплывчатые структуры неопределенной формы, окрашенные в темно-коричневый цвет; б — существенное уменьшение количества КЛ в волосяном фолликуле и образование мелкозернистого материала темно-коричневого цвета. Реакция на АТФазу. Об. 20, ок. 10.

лярным руслом дермы, что может отражать как факт миграции клеток в эпидермис (из эпидермиса), так и возможность секреции веществ в кровь, поскольку имеются указания на эндокринную функцию КЛ [9]. С другой стороны, имеется

связь клеток с нервными волокнами. В последнее время успешно разрабатываются представления о так называемой диффузной нейроиммуноэндокринной системе кожи, которая на местном уровне реализует защитные реакции организма и тесно связана с защитными механизмами всего организма [9]. В состав этой системы в качестве важнейшего элемента включены и КЛ. В таком случае можно говорить о роли КЛ эпидермиса не только в защитных реакциях кожи, но и в регуляции гомеостаза всего организма, а изменения в их популяции использовать как критерии тяжести заболевания, эффективности лечения и с прогностической целью.

При холодовой смерти наблюдаются изменения КЛ, имеющие деструктивный характер. Это свидетельствует об их высокой чувствительности к холодовому фактору. Сходные данные получены в исследованиях на крысах [3].

Вместе с тем, как видно из настоящего исследования, не все КЛ при замерзании подвергаются деструктивным изменениям и распаду. Часть их сохраняют свое строение за исключением уменьшения длины отростков или их полного исчезновения. Повышение активности фермента мы рассматриваем как результат перемещения его в тело при сокращении и исчезновении отростков. В свою очередь, это приводит к образованию в теле клеток большого количества продукта реакции (нитрата свинца), который маскирует клеточное ядро. Возникает также вопрос, почему одни клетки сохраняются, тогда как другие разрушаются с образованием мелкозернистого материала. Можно было бы думать, что разрушению подвергаются старые и менее устойчивые клетки, но это противоречит современным представлениям о том, что КЛ эпидермиса являются незрелыми дендритными клетками. Вместе с тем, в более ранних исследованиях, посвященных строению данных клеток, имеются указания на то, что после окончания своего жизненного цикла они смещаются в более поверхностные слои эпидермиса и слущиваются [11]. Эти данные, на наш взгляд, подтверждают еще и тем, что при тяжелых онкологических заболеваниях, а также в постмортальном периоде количество КЛ не только уменьшается, но они и смещаются в вышележащие слои эпидермиса [5].

Ранее было показано, что в посмертном периоде отдельные КЛ эпидермиса могут сохраняться на протяжении длительного холодового воздействия (11 и 45 сут) [4]. В обоих случаях при имеющихся признаках деструкции значительной части КЛ с образованием мелкозернистого материала в эпидермисе в небольшом количестве встреча-

лись мало- или практически неизменные КЛ. Эти данные могут свидетельствовать о различной резистентности КЛ к холодовому воздействию, а следовательно, и о неоднородности их популяции. Можно также полагать, что холод до определенной температуры тела замерзающего человека оказывает на КЛ повреждающее воздействие, которое может некоторое время продолжаться и после наступления смерти. При дальнейшем снижении температуры трупа и промерзании тканей те клетки, которые не подверглись разрушению, должны испытывать на себе консервирующее действие холодового фактора и сохраняться.

Данные настоящего исследования показывают, что КЛ весьма чувствительны к изменению температурного гомеостаза. В литературе, к сожалению, отсутствуют сведения о влиянии на КЛ систематически повторяющихся холодовых воздействий. Вместе с тем, такие воздействия постоянно имеют место в повседневной жизни проживающего в умеренных и северных широтах человека. В связи с этим, а также с широким использованием холодового фактора для эффективного закаливания организма исследование данных клеток может быть применено для оценки состояния организма, тем более, что поверхностное расположение кожи позволяет легко получать биопсийный материал. Кроме того, изучение КЛ может оказаться полезным в судебной медицине для диагностики смерти от холодового воздействия, которая довольно часто является в наших широтах. Однако ее точная диагностика до сих пор затруднительна. Как указывают Г.А. Акимов и соавт. [1], общее охлаждение организма встречается часто в виде самостоятельной причины смерти или сопутствует патологическому процессу, и анализ протоколов судебно-медицинских вскрытий погибших от глубокого охлаждения показывает, что оно, к сожалению, часто не диагностируется вследствие недостаточной осведомленности врачей. Таким образом, исследование строения КЛ может иметь важное прикладное значение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акимов Г.А., Алишев Н.В., Бернштейн В.А. и др. Общее охлаждение организма. М., Медицина, 1977.
2. Макаренкова В.П., Кост Н.В. и Щурин М.Р. Система дендритных клеток: роль в индукции иммунитета и патогенезе инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний. Иммунология, 2002, № 2, с. 68–76.
3. Мяделец О.Д. и Адаскевич В.П. Морфофункциональная дерматология. М., Мед. лит-ра, 2006.
4. Мяделец О.Д. и Полчанинова В.В. Количественная динамика клеток Лангерганса эпидермиса в постмортальном периоде. Вестн. Ивановск. мед. акад., 1997, т. 2, № 4, с. 32–38.

5. Мяделец О.Д., Полчанинова В.В. и Федоренко И.И. Морфо-функциональные изменения клеток Лангерганса эпидермиса человека при некоторых воспалительных и онкологических заболеваниях. *Морфология*, 1999, т. 116, вып. 6, с. 58–63.
6. Пащенко М.В. и Пинегин Б.В. Основные свойства дендритных клеток. *Иммунология*, 2001, № 4, с. 7–16.
7. Пащенко М.В. и Пинегин Б.В. Роль дендритных клеток в регуляции иммунитета. *Иммунология*, 2002, № 5, с. 313–320.
8. Персина И.С. Клетки Лангерганса: структура, функция, роль в патологии. *Арх. пат.*, 1985, т. 47, № 2, с. 86–93.
9. Смирнова И.О., Кветной И.М., Князькин И.В. и др. Нейро-иммуноэндокринология кожи и молекулярные маркеры ее старения. СПб., Деан, 2005.
10. Тухватуллина З.Г. Клетки Лангерганса. *Вестн. дерматол. и венерол.*, 1994, № 5, с. 23–24.
11. Mackenzie J.C. Ordered structure of the epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 1975, v. 65, p. 45–52.
12. Robins P.G. and Brandon D.R. A modification of the adenosine triphosphatase method to the demonstrated epidermal Langerhans cells. *Stain Technol.*, 1981, v. 2, p. 87–89.
13. Udey M.C. Cadherins and Langerhans cell immunobiology. *Clin. Exp. Immunol.*, 1997, v. 107 (Suppl. 1), p. 6–8.

Поступила в редакцию 19.07.08
Получена после доработки 15.11.08

LANGERHANS CELLS OF THE INTERFOLLICULAR EPIDERMIS AND EXTERNAL ROOT SHEATH EPITHELIUM OF THE HAIR FOLLICLES OF THE NORMAL HUMAN SKIN AND IN DEATH CAUSED BY FREEZING

Ye.V. Stefanenko, O.D. Myadelets O.A., Kukhnovets and V.O. Myadelets

The skin obtained from 50 cadavers of the individuals of both sexes who died as a result of general cooling was studied during a post-mortem examination in Vitebsk District Administration of The State Medical Forensic Expertise Service (Byelorussia). As the control, the skin of 10 people who died in car accidents and for other reasons, not associated with the effect of cold, as well as the skin samples taken from 10 healthy volunteers, were studied. Langerhans cells (LC) of the epidermis and hair follicle epithelium were studied using the ATPase reaction. LC structure under normal condition is described in detail. It was shown that these cells were localized in the suprabasal layer of the epidermis and of the epithelium of the external root sheath of the hair follicles. LC were forming contacts with one another by their long processes. In individuals who died as a result of general cooling, the number of LC was decreased both in the epidermis and in the epithelium of the external root sheath of the hair follicles and these cell underwent marked degenerative changes.

Key words: *skin, Langerhans cells, death caused by freezing.*

Department of Histology, Cytology and Embryology, Vitebsk State Medical Academy; Vitebsk District Administration of The State Medical Forensic Expertise Service, Byelorussia.