

3. Молочков В.А., Шабалин В.Н., Кряжева С.С. и др. Руководство по геронтологической дерматологии. М.: МОНИКИ; 2005: 24—35.
4. Беркин К. (Berking K.) Дерматолог-2012 (русскоязычная версия журнала Hautarzt Springer Medizin Verlag). 2007; 58(5): 398—405.
5. Чайковская Е., Губанова Е. Фотостарение и биологическое старение кожи. Русское изд. «Нувель Эстетик». 2003; 4: 44—50.
6. Огрызко Е.В., Иванова М.А., Волгин В.Н., Ялхороева Р.М. Эпидемиологическая ситуация по заболеваемости новообразованиями кожи в Российской Федерации в 2000-2006 гг. Российский журнал кожных и венерических болезней 2008; 6: 4—8.
7. Melnikova V.O., Ananthaswamy H.N. Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. Mutat. Res. 2005; 571(1—2): 91—106.
8. Cerimele D., Celleno L., Serii F. Physiological changes in ageing skin. Br. J. Dermatol. 1990; 122(Suppl. 35): 13—20.
9. Снарская Е.С., Молочков В.А. Базалиома. М.: Медицина; 2003.
10. Снарская Е.С. Иммунологические аспекты патогенеза, дифференциальной диагностики и иммунотерапии язвенной разновидности базально-клеточного и метатипического рака кожи: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2005.
11. Ньюсам П.Р., Ромей М.Л., Сегьюти М., Стенсон С., Джассейн В. Transition Optical. Вестник оптометрии. 2007; 3—4: 2—12.
12. Treatment of Skin Disease. Lebwohl M.G. et al., eds. Mosby; 2003: 16, 78.
13. Mauriello J.A. Jr., Napolitano J., McLean I. Actinic keratosis and dysplasia of the conjunctiva: a clinicopathological study of 45 cases. Can. J. Ophthalmol. 1995; 30(6): 312—6.

Поступила 13.05.12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.5-006.81-076.5-078.33

Повышение содержания ферментов, метаболизирующих стероиды, в эпидермисе у больных меланоцитарными новообразованиями кожи

А.С. Малышев, Т.Г. Рукуша, В.И. Прохоренков

ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Функционирование кожи как органа нейроиммунноэндокринной системы при развитии новообразований кожи изучено недостаточно хорошо. Однако способность многих локально синтезируемых регуляторов, в частности стероидных гормонов, изменять интенсивность пролиферации клеток кожи позволяет предположить их роль в развитии патологических процессов в коже. В данном исследовании были определены изменения способности кератиноцитов эпидермиса к продукции стероидных гормонов при меланоцитарных новообразованиях кожи, что может быть связано с развитием данных заболеваний и способствовать формированию новых терапевтических подходов при данных заболеваниях.

Ключевые слова: невусы, меланома, стероидогенез, цитохром P450scc, 21-гидроксилаза, 3β-гидроксистероиддегидрогеназа

HIGH LEVELS OF STEROID-METABOLIZING ENZYMES IN THE EPIDERMIS OF PATIENTS WITH MELANOCYTIC TUMORS OF THE SKIN

A.S. Malyshev, T.G. Ruksha, V.I. Prokhorenkov

The functioning of the skin as a neuroimmunoendocrine system organ during development of skin tumors received insufficient attention. Many locally produced regulators, for example steroid hormones, modify the intensity of skin cell proliferation. This fact suggests their involvement in the development of pathological processes in the skin. Changes in the epidermal keratinocyte production of steroid hormones in melanocytic tumors of the skin have been evaluated. These changes can be caused by development of these abnormalities. In addition, they suggest the formation of new therapeutic approaches in these diseases.

Key words: nevuses, melanoma, steroidogenesis, cytochrome P450scc, 21-hydroxylase, 3b-hydroxysteroid dehydrogenase

В результате многочисленных исследований последнего десятилетия определено, что в коже синтезируется большой комплекс нейроэндокринных медиаторов (в том числе adrenokortikotropnyy гормон, пролактин, α-меланоцитстимулирующий гормон, тиреотропный гормон), выявляются рецепторы к гормонам и нейротрансмиттерам [1—3].

Недавние исследования в области нейроэндокринологии кожи показали, что кожа, в частности, волосяные фолликулы, функционируют по типу систем гипоталамус — гипофиз — кора надпочечников, гипота-

Сведения об авторах:

Малышев А.С. — ассистент (a.malishev@mail.ru); Рукуша Т.Г. — д-р мед. наук; Прохоренков В.И. — д-р мед. наук, проф.

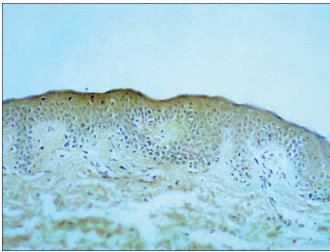


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание для визуализации клеток цитохрома P450scc⁺ в нормальной коже. Ув. 10.

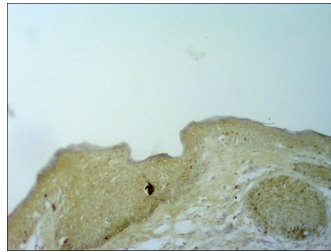


Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание для визуализации цитохром P450scc⁺ клеток у больных внутридермальными меланоцитарными невусами. Ув. 10.

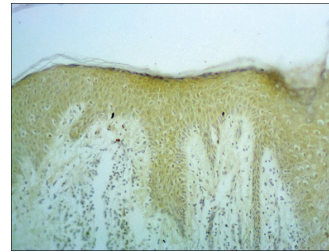


Рис. 3. Иммуногистохимическое окрашивание для визуализации цитохром P450scc⁺ клеток у больного меланомой кожи. Ув. 10.

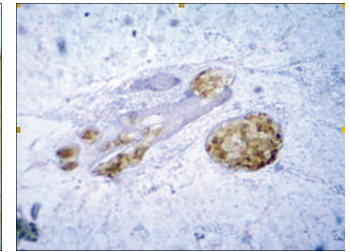


Рис. 4. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к β -гидроксистероиддегидрогеназе. Положительно окрашенные клетки сальных желез. Ув. 40.

лапус — гипофиз — щитовидная железа и синтезируют регуляторные молекулы трех вышеуказанных уровней регуляции [4]. Полученные данные выявили необходимость дальнейшего разьяснения роли синтезируемых в коже регуляторов, а также функционирования регуляторных систем в развитии дерматологических заболеваний.

Синтез стероидных гормонов в коже начинается с превращения холестерина в прегненолон под действием фермента цитохром P450scc [5]. В дальнейшем прегненолон метаболизируется по нескольким путям вплоть до образования альдостерона, кортизола и половых гормонов. Выявлено, что изменения уровня ферментов, принимающих участие в метаболизме стероидных гормонов, регистрируются при действии УФ-излучения на клетки кожи. Установлено, что ингибирование фермента 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы (11 β -HSD), метаболизирующего дезоксикортикостерон в коже, модулирует пролиферативную активность клеток кожи, в частности фибробластов [6]. Таким образом, нарушения синтеза стероидных гормонов могут играть роль в развитии фотоиндуцированных заболеваний кожи, связанных с нарушением пролиферативной активности.

Цель исследования — определение содержания ферментов, принимающих участие в стероидогенезе, в коже при меланоцитарных новообразованиях доброкачественного и злокачественного характера.

Материалы и методы

Биоптаты кожи больных меланомой кожи ($n = 12$), внутридермальными меланоцитарными невусами ($n = 10$) и здоровых лиц ($n = 6$) — контрольная группа, фиксировали в нейтральном формалине, заливали в парафин. Гистологические препараты толщиной 4—5 мкм подвергали иммуногистохимическому окрашиванию с моноклональными антителами к цитохрому P450scc ("Corgen Inc."), 21-гидроксилазе ("Corgen Inc.") и β гидроксистероиддегидрогеназе (β -HSD⁺ (Abcam). При завершении срезы докрашивали гематоксилином. Результаты иммуногистохимического исследования оценивали с помощью микроскопа Olympus BX-41, программного обеспечения Infinity Software ("Lumenera", Канада). Определяли количество положительно окрашенных клеток на 100 клеток эпидермиса и дермы.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью t -критерия Манна—Уитни. Различия расценивали как статистически значимые при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Гистологически внутридермальные невусы представляют собой тяжи и гнезда невусных клеток, располагающихся в дерме, имеют тенденцию концентрироваться вокруг пилосебоцейных комплексов. От эпидермиса гнезда невусных клеток отделены узкой прослойкой соединительной ткани. Гнезда состоят преимущественно из клеток оваль-

ной и кубической формы с округлыми гиперхромными ядрами. Гистологически меланома выглядит как неравномерно утолщенный эпидермис с густым лимфоцитарным инфильтратом под ним в виде темной сплошной полосы. Опухолевые меланоциты, единичные или в виде небольших групп, инфильтрируют все слои эпидермиса. В периферических отделах поражения опухолевые клетки имеют более базальное расположение, особенно в лентигинозных вариантах меланомы (злокачественный лентигино или акрально-лентигинозная меланома), а также резко выраженный полиморфизм, атипичию клеточных элементов.

Цитохром P450scc в нормальной коже выявляли преимущественно в клетках эпидермиса (рис. 1). В коже больных внутридермальными меланоцитарными невусами цитохром P450scc⁺-клетки (клетки, экспрессирующие цитохром P450scc) определяли в дерме, диффузно, в невусных клетках (рис. 2). Уровень экспрессии цитохрома P450scc в эпидермисе у больных внутридермальными меланоцитарными невусами был выше, чем у лиц контрольной группы; $p = 0,0018$ (см. таблицу). В коже больных меланомой клетки цитохрома P450scc⁺ выявляли в эпидермисе непосредственно вблизи базального слоя, в дерме они были сосредоточены в непосредственной близости от сальных желез, окружая их по периферии, а также отмечались их вкрапления в сосочковом слое дермы (рис. 3). Статистически значимое повышение уровня экспрессии цитохрома P450scc зафиксировали в эпидермисе при меланоме кожи ($p = 0,0015$).

Клетки, положительно окрашенные на 21-гидроксилазу, выявляли в здоровой коже в эпидермисе, а также в потовых железах в цитоплазме. В коже больных внутридермальными меланоцитарными невусами данные клетки определяли непосредственно в верхних слоях эпидермиса, диффузно, окрашивание клеток было слабым. Фермент выявляли преимущественно в базальном слое, более интенсивную окраску — в межклеточных пространствах, в дерме иммуноположительные на 21-гидроксилазу клетки располагались диффузно, не имея четкой связи с придатками кожи. Оценивая среднее значение на 100 клеток, в эпидермисе у лиц контрольной группы выявляли такое же количество иммуноположительных клеток, как и у больных меланомой кожи и меланоцитарными невусами (см. таблицу).

β -HSD⁺-клетки слабо определялись в здоровой коже в эпидермисе, а также в сальных железах. В коже больных внутридермальными меланоцитарными невусами количество β -HSD⁺-клеток незначительно превышало таковое в контрольной группе ($p = 0,3913$), β -HSD⁺-клетки выявляли непосредственно в сальных железах. У больных меланомой кожи определяли статистически значимое увеличение в эпидермисе количества β -HSD⁺-клеток по

Количество клеток, экспрессирующих цитохром P450scc, 21-гидроксилазу, 3β-гидроксистероиддегидрогеназу у больных меланоцитарными невусами и меланомой кожи

Положительно окрашенные клетки, %	Контроль	Невусы		Меланома кожи	
		эпидермис	дерма	эпидермис	дерма
CYP450scc ⁺ -клетки	15,6	63,2*	35	71,5**	29,7
21-гидроксилаза ⁺	30,6	39,1***	31,8	33,2*	36,5
3β-гидроксистероиддегидрогеназа	7,8	10,1 ^{5*}	8	12,5 ^{6*}	12,8

Примечание. * — статистически значимые различия с показателем в контроле в соответствующей группе $p = 0,0018$; ** — $p = 0,0015$; *** — статистически значимые различия с показателем в контроле в соответствующей группе $p = 0,4624$; 4* — $p = 1,0$; 5* — статистически значимые различия с показателем в контроле в соответствующей группе $p = 0,3913$; 6* — $p = 0,0731$.

сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе ($p = 0,0731$). Данные клетки фиксировали вблизи базального слоя, единичными вкраплениями. В дерме их определяли непосредственно в сальных железах (рис. 4).

Таким образом, в результате выполненного исследования в эпидермисе больных внутридермальными меланоцитарными новообразованиями кожи установили повышение уровня ферментов, участвующих в синтезе стероидных гормонов, — цитохрома P450scc, 3β-HSD⁺. Как уже указывалось выше, под действием цитохрома P450scc в митохондриях происходит отщепление от холестерина боковой цепи, посредством чего последний превращается в прегненолон. Сравнительно недавно было выявлено, что данный фермент в коже непосредственно участвует в метаболизме витамина D₃, который хорошо известен как регулятор пролиферации и дифференцировки кератиноцитов [5]. В частности, известно, что 20-гидроксивитамин D₃, 20,23-дигидроксивитамин D₃ дают противовоспалительный эффект посредством прямого ингибирования активности транскрипционного фактора NF-κB, ингибируют пролиферацию кератиноцитов, активируют их дифференцировку [7].

Помимо гирсутизма, нарушений менструального цикла, бесплодия недостаточность 21-гидроксилазы, 3β-HSD⁺ при неклассической форме данной патологии проявляется тяжело протекающей угревой болезнью, что может являться подтверждением значимости данных ферментов в нормальном функционировании кожи. Блокирование метаболизма стероидов на уровне двух вышеуказанных ферментов приводит к усилению синтеза половых гормонов, в частности, тестостерона, чем объясняют развитие угревой болезни у пациентов с данной патологией [8]. Экспрессия 3β-HSD⁺ в коже впервые была описана M. Dumont и соавт. в 1992 г. [9], при этом обнаружено, что 90% фермента регистрируется в сальных железах, как это было указано и в нашем исследовании, а оставшиеся 10% — в эпидермисе, клетках волосных фолликулов, потовых железах.

Несомненно интересным является факт отсутствия изменений содержания данных ферментов непосредственно в опухолевых клетках и клетках невусов, хотя наличие этих белков регистрировали в вышеуказанных структурах. Полученные данные могут являться свидетельством того, что развитие опухолевого процесса, по всей вероятности, не ассоциировано с повышением продукции половых гормонов. Известно, что показателем интенсивности синтеза стероидных гормонов при острой положительной регуляции является экспрессия белка StAR, в остальных

случаях — цитохрома P450scc [10]. В связи с этим следует предположить, что развитие меланоцитарных новообразований кожи связано с неспецифической интенсификацией синтеза стероидных гормонов в коже.

Выводы

- В эпидермисе больных внутридермальными меланоцитарными новообразованиями кожи регистрируется повышенный уровень ферментов, метаболизирующих стероидные гормоны, — цитохрома P450scc, 21-гидроксилазы, 3β-HSD⁺, что может быть сопряжено с активацией пролиферативных процессов в коже при данной патологии, но не с канцерогенезом.

- Регуляция синтеза стероидных гормонов в коже может быть использована в качестве новой терапевтической стратегии при пролиферативных заболеваниях кожи.

Исследование выполнено при поддержке внутривузовским грантом Красноярского государственного медицинского университета (Т.Г.Р.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Foitzik K., Langan E.A., Paus R. Prolactin and the skin: a dermatological perspective on an ancient pleiotropic peptide hormone. *J. Invest. Dermatol.* 2009; 129(5): 1071—87.
2. Langan E.A., Ramot Y., Hanning A., Poeggeler B., Bíró T., Gaspar E., et al. Thyrotropin-releasing hormone and oestrogen differentially regulate prolactin and prolactin receptor expression in female human skin and hair follicles *in vitro*. *Br. J. Dermatol.* 2010; 162(5): 1127—31.
3. Rousseau K., Kauser S., Pritchard L.E., Warhurst A., Oliver R.L., Slominski A., et al. Proopiomelanocortin (POMC), the ACTH/melanocortin precursor, is secreted by human epidermal keratinocytes and melanocytes and stimulates melanogenesis. *FASEB J.* 2007; 21(8): 1844—56.
4. Bodó E., Kany B., Gáspár E., Knüver J., Kromminga A., Ramot Y., et al. Thyroid-stimulating hormone, a novel, locally produced modulator of human epidermal functions, is regulated by thyrotropin-releasing hormone and thyroid hormones. *Endocrinology*. 2010; 151(4): 1633—42.
5. Nguyen M.N., Slominski A., Li W., Ng Y.R., Tuckey R.C. Metabolism of vitamin d2 to 17,20,24-trihydroxyvitamin d2 by cytochrome p450scc (CYP11A1). *Drug Metab. Dispos.* 2009; 37(4): 761—7.
6. Terao M., Murota H., Kimura A., Kato A., Ishikawa A., Igawa K., et al. 11β-Hydroxysteroid dehydrogenase-1 is a novel regulator of skin homeostasis and a candidate target for promoting tissue repair. *PLoS One*. 2011; 6(9): e25039.
7. Tang E.K., Li W., Janjetovic Z., Nguyen M.N., Wang Z., Slominski A., Tuckey R.C. Purified mouse CYP27B1 can hydroxylate 20,23-dihydroxyvitamin D₃, producing 1α,20,23-trihydroxyvitamin D₃, which has altered biological activity. *Drug Metab. Dispos.* 2010; 38(9): 1553—9.
8. Chen W., Obermayer-Pietsch B., Hong J.B., Melnik B.C., Yamasaki O., Dessinioti C., et al. Acne-associated syndromes: models for better understanding of acne pathogenesis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2011; 25(6): 637—46. doi: 10.1111/j.1468-3083.2010.03937.x.
9. Dumont M., Luu-The V., Dupont E., Pelletier G., Labrie F. Characterization, expression, and immunohistochemical localization of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta 5-delta 4 isomerase in human skin. *J. Invest. Dermatol.* 1992; 99(4): 415—21.
10. Miller W.L. Role of mitochondria in steroidogenesis. *Endocr. Dev.* 2011; 20: 1—19.

Поступила 30.01.12