

Iek. Anna Chruściel

**BADANIA ULTRASTRUKTURALNE WYCINKÓW SKÓRY W WYBRANYCH CHOROBAH
DERMATOLOGICZNYCH**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Zakład Histologii i Embriologii Międzywydziałowej Katedry Anatomii i Histologii

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Hieronim Bartel

Streszczenie.

Naskórek stanowi tkankę ulegającą ciągłej odnowie i regeneracji. Zjawiska patologiczne powodują nasilenie lub spowolnienie tych procesów. Ocena proliferacji komórek ma istotne znaczenie dla zrozumienia etiopatogenezy chorób hiperproliferacyjnych naskórka takich jak łuszczyca, kontaktowe zapalenie skóry, nowotwory. W każdej z tych chorób obserwuje się nasilone procesy proliferacyjne. Łuszczyca jest przewlekłą chorobą cechującą się łagodną proliferacją komórek naskórka. Rak podstawnocomórowy jest najczęściej występującym rakiem skóry rasy kaukaskiej. Charakteryzuje go tzw. miejscowa złośliwość związana z powolnym wzrostem oraz rzadko występującymi przerzutami. Kontaktowe zapalenie skóry jest to miejscowa reakcja zapalna skóry o podłożu immunologicznym lub nieimmunologicznym, powstająca w następstwie jednorazowej lub wielokrotnej ekspozycji na czynniki egzogenne.

Celem pracy było wykazanie różnic budowy ultrastrukturalnej w zależności od nasilenia aktywności transkrypcyjnej naskórka oraz porównanie aktywności transkrypcyjnej komórek naskórka przy pomocy barwienia histochemicznego AgNOR metodą Plotona w chorobach hiperproliferacyjnych: łuszczycy, kontaktowym zapaleniu skóry i raku podstawnocomórkowym. Materiał doświadczalny stanowią wycinki skóry pacjentów z łuszczycą, kontaktowym zapaleniem skóry i rakiem podstawnocomórkowym kierowanych na badanie histopatologiczne w Klinice Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w

Łodzi. Rozpoznanie zostało postawione na podstawie obrazu klinicznego zmian skórnych a następnie potwierdzone badaniem histopatologicznym. W pracy oceniano wycinki skóry w mikroskopie świetlnym, elektronowym i porównano aktywność proliferacyjną komórek naskórka poprzez ilościową analizę AgNOR w mikroskopie świetlnym.

Obraz ultrastrukturalny naskórka wykazywał szereg cech charakterystycznych dla poszczególnych jednostek chorobowych, nie spotykanych w skórze zdrowej. W łuszczycy bardzo trudno jest odróżnić poszczególne warstwy keratynocytów poza warstwą podstawną w naskórku. Wynika to z utraty polaryzacji keratynocytów i podobnego kształtu każdego z nich. Obserwowano warstwę wydłużonych komórek podstawnych oraz poszerzone przestrzenie międzykomórkowe. W obrębie cytoplazmy obserwowano liczne rybosomy oraz siateczkę śródplazmatyczną szorstką. Stanowią one morfologiczne cechy biosyntezy białka, charakterystyczne dla komórek szybko rosnących. Jądra komórek warstwy podstawnej i kolczystej cechuje zbliżony rozmiar i kształt, są jednak większe niż w keratynocytach skóry zdrowej. Jądra komórkowe są duże, z dość regularną, gładką otoczką jądrową, a w ich obrębie uwidoczniono obecność kilku również powiększonych gąbczastych jąder, zwykle 2 - 4. W niektórych jąderkach uwidoczniono ośrodki włókniste w ilości od jednego do kilku, rzadziej obecne w prawidłowym naskórku. Istotne wydaje się zmniejszenie koncentracji heterochromatyny w komórkach łuszczycowych. Ultrastruktura keratynocytów warstwy ziarnistej wskazuje na ich niewystarczające różnicowanie: nienaruszone jądra, mitochondria, retikulum endoplazmatyczne. W obrębie skóry właściwej uwidoczniono poszerzone światło naczyń krwionośnych.

W przypadku pacjentów z wypryskiem kontaktowym najbardziej zaznaczoną cechą, szczególnie w obrębie dolnych warstw naskórka, jest obrzęk zewnątrzkomórkowy, w wyniku którego dochodziło do wydłużenia a nawet rozerwania mostków międzykomórkowych i filamentów pośrednich, jednak bez uszkodzeń samych płytek desmosomalnych. Charakterystyczną cechą było również występowanie obrzęku wewnątrzkomórkowego. Jądra keratynocytów były mniejsze niż w przypadku łuszczycy, z wyraźnie zaznaczonymi pojedynczymi jąderkami. Jąderka w kontaktowym zapaleniu skóry mają jednak również charakter gąbczasty, co świadczy o aktywności transkrypcyjnej keratynocytów. Stwierdzono również obecność niewielkiej ilości heterochromatyny przy otoczce jądrowej. W górnej

części skóry właściwej w pobliżu błony podstawnej charakterystyczna jest obecność licznych wrzecionowatych mastocytów.

W preparatach raka podstawnocomórkowego uwidoczniono, charakterystyczne szczególnie dla postaci guzkowej, okrągłe gniazda komórek nowotworowych, otoczonych błoną podstawną. Na obwodzie tych struktur komórki przypominające keratynocyty warstwy podstawnej, tzw. komórki bazaloidalne układały się palisadowato, prostopadle do błony podstawnej. Wykazano zmniejszenie liczby hemidesmosomów wzdłuż brzegu struktur raka podstawnocomórkowego w porównaniu z prawidłowym naskórkiem. W centrum komórki nowotworowe stawały się mniejsze, okrągłe, ułożone bardziej chaotycznie, obecne są tam też ogniska martwicy. Pomiędzy tymi komórkami uwidoczniono liczne poszerzone przestrzenie wypełnione prawdopodobnie złoгами mucyny. Obserwowano komórki nowotworowe o dużych jądrach, zwykle z widocznym pojedynczym gąbczastym jąderkiem. W obrębie cytoplazmy zwraca uwagę obecność tonofilamentów oraz dużych mitochondriów. Pomiędzy komórkami nowotworowymi obecne były jedynie pojedyncze połączenia desmosomalne.

Wykazano obecność ziarnistości AgNOR we wszystkich badanych grupach. Analiza statystyczna obejmowała następujące parametry: średnia powierzchnia pojedynczej plamy, średnia liczba plam na jądro, średnia powierzchnia AgNOR na jądro oraz współczynnik udziału. Najwięcej istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi parametrami wykazano pomiędzy wypryskiem i łuszczycą. Grupy raka podstawnocomórkowego i łuszczycy różniły się istotnie jedynie pod względem średniej liczby plam AgNOR na jądro. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi parametrami w wyprysku i raku podstawnocomórkowy. Średnia powierzchnia AgNOR na jądro nie różniła się istotnie pomiędzy grupami. W przypadku łuszczycy obserwowano najmniejszą średnią powierzchnię pojedynczej plamy, największą liczbę plam na jądro oraz najwyższą wartość współczynnika zawartości AgNOR.

Uzyskane wyniki pozwoliły wysunąć następujące wnioski:

- 1) Obraz komórek naskórka w mikroskopie elektronowym w badanych jednostkach chorobowych różni się pomiędzy łuszczycą, rakiem podstawnocomórkowym oraz wypryskiem kontaktowym i zależy od aktywności transkrypcyjnej komórek naskórka.

- 2) Na poziomie ultrastrukturalnym w naskórku zaobserwowano morfologiczne zmiany wielkości, kształtu i struktury jąder oraz wielkości, ilości i struktury jąderek keratynocytów. W komórkach o większej aktywności transkrypcyjnej (łuszczyca) obserwowano większe jądra oraz większą ilość i wielkość jąderek w ich obrębie.
- 3) W obrazie submikroskopowym w naskórku we wszystkich badanych grupach stwierdzono obecność jąderek o charakterze gąbczastym, charakterystyczny dla komórek aktywnych transkrypcyjnie.
- 4) W obrazie ultrastrukturalnym w naskórku zaobserwowano morfologiczne wykładniki biosyntezy białka, najbardziej zaznaczone w preparatach łuszczycy.
- 5) Najwyższą aktywność transkrypcyjną komórek naskórka, określoną przy pomocy AgNOR, wykazano w łuszczycy. W przypadku łuszczycy obserwowano najmniejszą średnią powierzchnię pojedynczej plamy AgNOR, największą liczbę plam AgNOR na jądro oraz najwyższą wartość współczynnika zawartości AgNOR.
- 6) Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic aktywności transkrypcyjnej pomiędzy kontaktowym zapaleniem skóry a rakiem podstawnokomórkowym.

