

**А.О.Макарчук**

Запорізький державний  
медичний університет

**Ключові слова:** шкіра, інволютивні зміни, маласезійна інфекція, ультраструктура.

*Надійшла: 24.02.2015*

*Прийнята: 23.03.2015*

УДК 616.5:612.66]-06:616022]-085

## **ДИНАМІКА МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ШКІРИ ОБЛИЧЧЯ У ХВОРИХ З МАЛАСЕЗІЙНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ НА ЕТАПАХ АНТИМІКОТИЧНОЇ Й ОМОЛОДЖУВАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ**

**Реферат.** Метою даного дослідження було визначення морфологічних змін шкіри у хворих з маласезійною інфекцією на етапах антимікотичної й омолоджувальної терапії. У 90 пацієнтів з інволютивними змінами шкіри обличчя, в тому числі у 60 хворих на маласезіоз, з використанням електронної мікроскопії проведено визначення динаміки стану шкіри. Встановлено, що специфічна антимікотична терапія протягом 1 місяця перед пластичним втручанням в області обличчя забезпечувала нормалізацію структур шкіри, ушкоджених внаслідок кератомікозу, за рахунок стимуляції мітотичної активності кератиноцитів гермінативної зони та оптимізації епідермального диференціювання з обмеженням вакуолізації епітеліальних клітин. Продовження локальної та системної антимікотичної терапії впродовж 1 місяця після втручання супроводжувалось відновленням інволютивних морфологічних змін шкіри та попереджало розвиток рецидивів маласезіозу протягом 1 року.

**Morphologia.** – 2015. – Т. 9, № 1. – С. 39-46.

© А.О.Макарчук, 2015

✉ makarchuk.art@gmail.com

**Makarchuk A.O. The dynamics of morphological changes of facial skin in patients with malasseziasis at stages of antimycotic and anti-aging therapy.**

**ABSTRACT. Background.** Many questions about the dependence of pathological changes of the skin to age-appropriate background malassezia destruction require clarification and further advance, as well as the dependence of the effectiveness of anti-aging interventions of antimycotic therapy. **Objective.** The purpose of this study was to determine the morphological changes of the skin in patients with malasseziasis on stages of antimycotic and anti-aging therapy. **Methods.** In 90 patients with involutive changes in facial skin, including 60 patients with malasseziasis, using electron microscopy carried determine the state of the skin. **Results.** Found that specific antifungal therapy for 1 month prior to surgical intervention in the face provides the normalization of skin structures damaged by keratosis, through emulation of mitotic activity of keratinocytes in germinal zone and optimizing epidermal differentiation restricted vacuolization of epithelial cells. Prolongation of local and systemic antimycotic therapy within 1 month after the intervention was accompanied by reduction of involutive morphological changes of the skin and prevents development of malasseziasis recurrent for 1 year. **Conclusion.** Specific antimycotic therapy in patients with malasseziasis is essential for achieving high performance anti-aging activities.

**Key words:** skin, involutive changes, malasseziasis, ultrastructure.

### **Citation:**

Makarchuk AO. [The dynamics of morphological changes of facial skin in patients with malasseziasis at stages of antimycotic and anti-aging therapy]. *Morphologia.* 2015;9(1):39-46. Ukrainian.

### **Вступ**

Доцільність використання морфологічних даних для вибору методів лікування пацієнтів з інволютивними та патологічними змінами шкіри є встановленим і добре обґрунтованим фактом [1, 2]. У сучасній дерматології саме морфологічні критерії виявляються найбільш адекватними для оцінки структурно-функціонального стану тканин [3], проте не розроблені питання індивідуальної оцінки шкірних покривів з урахуванням маласезійного ушкодження. Поодинокими залишаються ультраструктурні дослідження структу-

ри зміненої шкіри [4].

За даними досліджень, проведених у людини та теплокровних тварин, маласезії можна візуалізувати у зроговілому шарі епідермісу за допомогою дослідження зразків шкірної біопсії, яка показала характерні патоморфологічні риси – гіперплазію епідермісу і міжклітинний набряк, а також змішаний поверхневий периваскулярний інфільтрат з мононуклеарних клітин, нейтрофілів і еозинофілів [5]. У деяких випадках мікробіота, ідентифікована цитологічно, не виявляється в гістологічних зрізах. Отже, ідентифікація мала-

сезій ще далеко від завершеності і потребує подальших досліджень, вона повинна спонукати до пробної терапії, але недостатня візуалізація його в гістопатологічних зрізах теж не виключає його присутності і потенційної значущості [6].

Отже, у теперішній час існує досить детальна мікробіологічна характеристика грибів *Malassezia* та їх властивостей при взаємодії зі шкірою під час розвитку патології, проте обмежено залишається інформація про морфологічні зміни шкіри за умов маласезіозу. Відсутні уявлення про залежність патоморфологічних змін від вікових особливостей шкіри на тлі маласезійного ураження, а також про залежність ефективності омолоджувальних втручань від проведення антимікотичної терапії.

**Метою** даного дослідження є визначення морфологічних змін шкіри у хворих з маласезійною інфекцією на етапах антимікотичної й омолоджувальної терапії.

#### **Матеріали та методи**

Морфологічне дослідження шкіри обличчя проведено у 90 пацієнтів з інволютивними змінами шкіри (всі – жінки) диференційовано по 3 вікових групах, які формували у відповідності з рекомендаціями В.В.Бунака, викладеними у посібнику «Морфология человека» [7]. Були досліджені такі вікові групи: 33-40 років (18 хворих на маласезіоз шкіри обличчя і 9 пацієнтів контрольної групи); 41-50 років (27 хворих з маласезіозом і 14 пацієнтів контрольної групи); 51-57 років (15 хворих з маласезіозом і 7 пацієнтів контрольної групи). Хворі на маласезіоз у кожній віковій категорії були розподілені на основну клінічну групу (з проведенням системної та локальної антимікотичної терапії протягом 1 місяця перед омолоджувальним втручанням і впродовж 1 місяця після нього) і групу порівняння (без специфічної антимікотичної терапії з проведенням втручання – кругової підтяжки обличчя або блефаропластики).

Для ультраструктурного аналізу епоксидні блоки матеріалу шкіри виготовляли з використанням композиції епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікротомі УМТП-6М («SELMIP», Україна). Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЭМ-100-01 («SELMIP», Україна) при напрузі прискорення 75-80 кВ і первинних збільшеннях від 1500 до 8000 за стандартною схемою [8, 9].

З використанням програмного пакету ImageJ 1,47v та загальних принципів морфометричного аналізу [10, 11] вивчали кількісні ультраструктурні параметри епідермісу та дерми. Статистичну обробку результатів виконували з використанням пакетів ліцензійних програм Statistica 6.1 (серійний номер AGAR 909 E415822FA). Визначення вірогідності розходжень між вибірками проводили з урахуванням парного t-критерію Стьюдента,

а також непараметричного критерію Вілкоксона у разі відсутності нормального статистичного розподілу.

#### **Результати та їх обговорення**

Дослідження морфологічних змін шкіри, що відбувалися протягом 1 місяця специфічної антимікотичної терапії у хворих на маласезіоз, показало суттєву терапевтичну ефективність лікування щодо провідних структурних компонентів ушкодженої шкіри. За даними електронної мікроскопії, чисельна щільність ядер кератиноцитів гермінативних шарів епідермісу перед втручанням в основній групі хворих віком 33-40 років (після 1 місяця антимікотичної терапії) зростала на 32,7% ( $p < 0,05$ ) відносно значення на початку дослідження, досягаючи рівня контрольної групи пацієнтів. Після проведення пластичної операції щільність ядер епідермальних клітин залишалась на стабільному рівні і не відрізнялася статистично від контрольних параметрів впродовж 1 року після втручання. Навпроти, у хворих групи порівняння (без попередньої антимікотичної терапії) динаміка післяопераційного періоду виявляла поступову тенденцію до погіршення показника: наприкінці спостереження чисельна щільність ядер кератиноцитів гермінативних шарів епідермісу на 29,2% ( $p < 0,05$ ) поступалася параметру основної клінічної групи за рахунок явищ спонгіозу (рис. 1).

У хворих на маласезіоз шкіри обличчя у старших вікових групах динаміка передопераційних і післяопераційних змін була схожою для вікової групи 33-40 років (рис. 2, 3). Через 12 місяців спостережень різниця чисельної щільності ядер кератиноцитів гермінативних шарів епідермісу між основною клінічною групою і групою порівняння у хворих 41-50 років становила 24,8% ( $p < 0,05$ ), у хворих 51-57 років – 35,4% ( $p < 0,05$ ).

Морфометричний аналіз динаміки змін загальної товщини базального, остистого та зернистого шарів епідермісу у хворих з маласезіозом віком 33-40 років не виявила достовірних змін протягом всього періоду спостережень в жодній досліджуваній клінічній групі (рис. 4). Навпроти, у хворих віком 41-50 років після 1 місяця антимікотичної терапії відбувалося значне потоншення гермінативного шару до рівня неушкодженої шкіри даних пацієнтів за рахунок редукції явищ спонгіозу, причому на всіх етапах після втручання значення показника залишались стабільними (рис. 5, 6). У відповідній за віком групі порівняння товщина гермінативної зони епідермісу на всіх етапах дослідження не відрізнялась від контрольних величин, але не за рахунок її нормалізації, а внаслідок збереження виразного набряку базального, остистого та зернистого шарів епідермісу. У хворих віком 51-57 років спостерігалася подібна тенденція змін

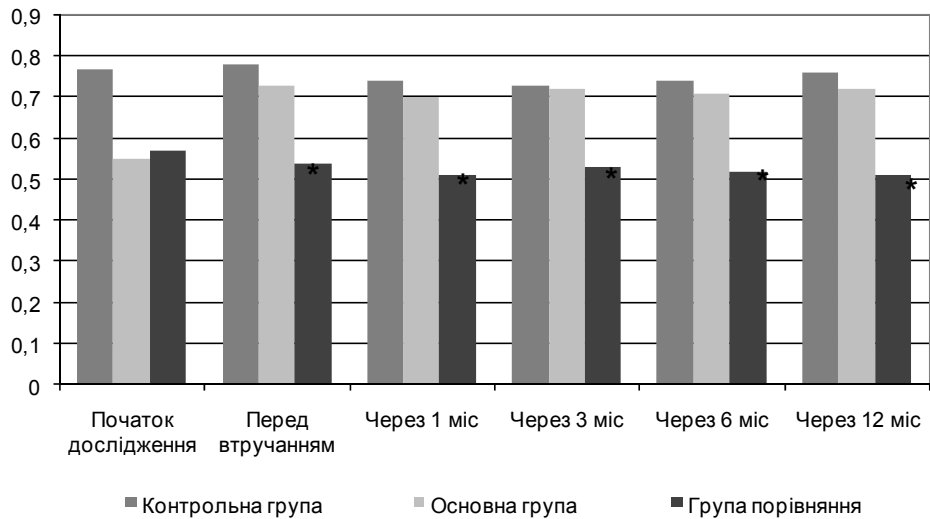


Рис. 1. Динаміка змін чисельної щільності ядер кератиноцитів гермінативних шарів епідермісу ( $10^3 \times \text{мм}^{-2}$ ) у пацієнтів віком 33-40 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною клінічною групою і групою порівняння.

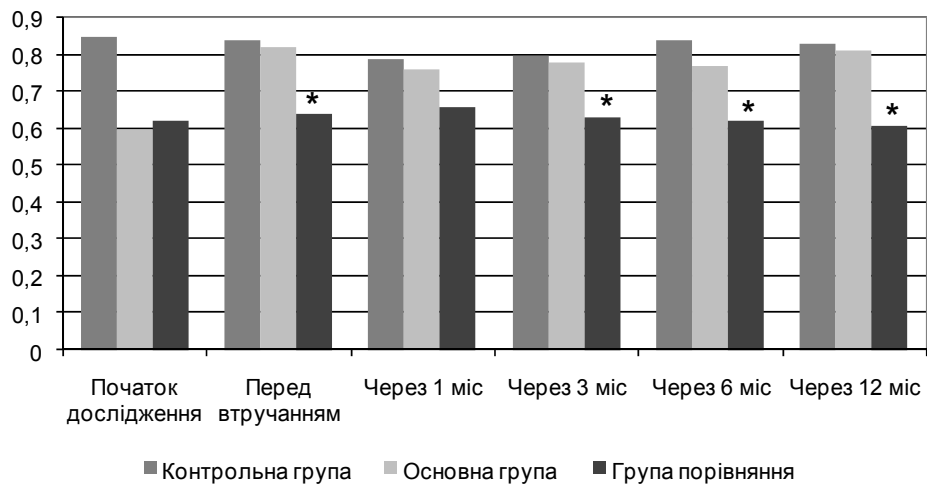


Рис. 2. Динаміка змін чисельної щільності ядер кератиноцитів гермінативних шарів епідермісу ( $10^3 \times \text{мм}^{-2}$ ) у пацієнтів віком 41-50 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною клінічною групою і групою порівняння.

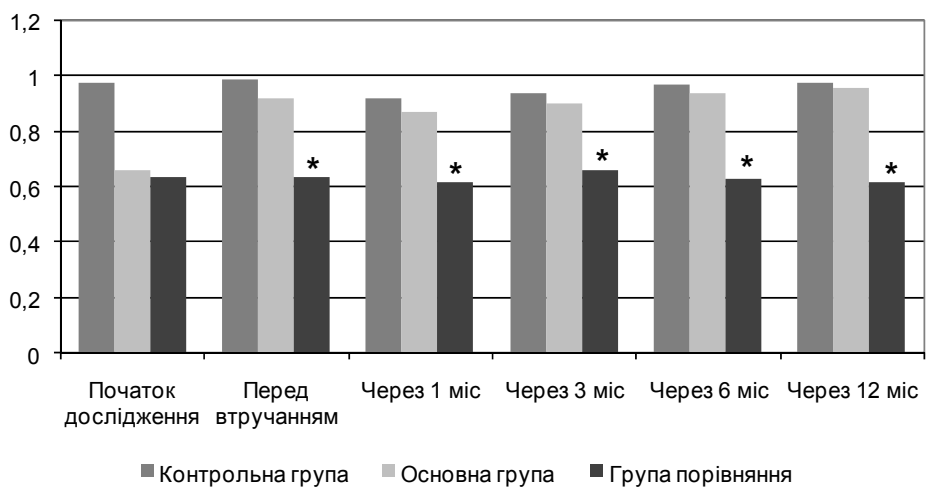


Рис. 3. Динаміка змін чисельної щільності ядер кератиноцитів гермінативних шарів епідермісу ( $10^3 \times \text{мм}^{-2}$ ) у пацієнтів віком 51-57 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною клінічною групою і групою порівняння.

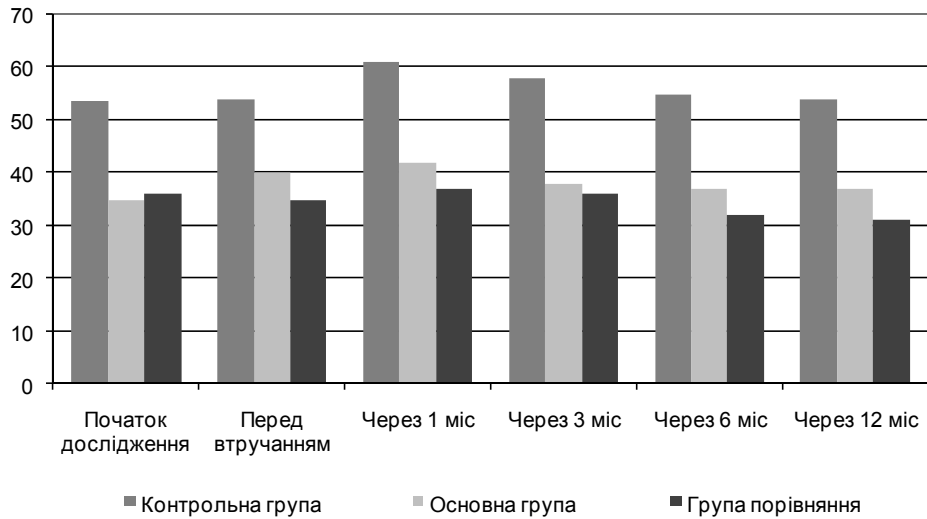


Рис. 4. Динаміка змін загальної товщини базального, остистого та зернистого шарів епідермісу (мкм) у пацієнтів віком 33-40 років.

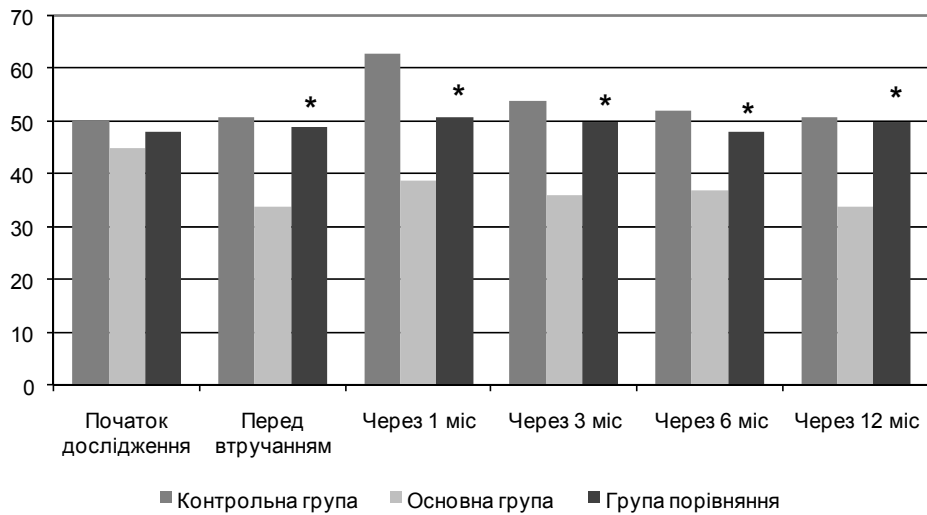


Рис. 5. Динаміка змін загальної товщини базального, остистого та зернистого шарів епідермісу (мкм) у пацієнтів віком 41-50 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною групою і групою порівняння.

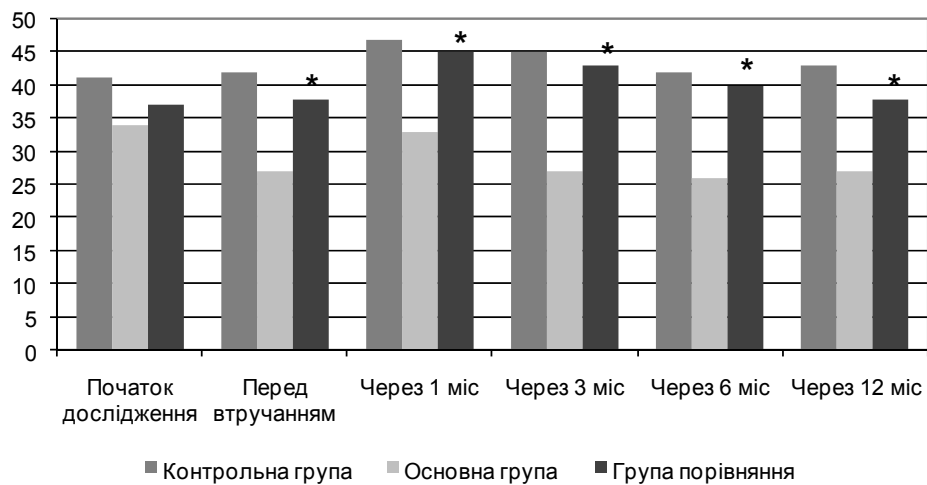


Рис. 6. Динаміка змін загальної товщини базального, остистого та зернистого шарів епідермісу (мкм) у пацієнтів віком 51-57 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною групою і групою порівняння ( $p < 0,05$ ).

Ультраструктура ушкодженої маласезіозом шкіри пацієнтів основної клінічної групи віком 33-40 років через 3 місяці після оперативного втручання свідчила про відновлення внутрішньоклітинних порушень, які спостерігалися у складі органел кератиноцитів гермінативної зони епідермісу на початку дослідження. Через 6 місяців після втручання відбувалося значне зменшення проявів міжклітинного набряку та ушкоджень контактного апарату кератиноцитів. Через 12 місяців спостережень у всіх досліджуваних хворих основної групи віком 41-50 років і 51-57 років протягом післяопераційного періоду відзначалося збереження нормальної цитоархітекτονіки епідермісу і дерми, досягнутої впродовж 1 місяця специфічної антимікотичної терапії перед омолоджуючим втручанням.

У пацієнтів групи порівняння, яким не проводили специфічну антимікотичну терапію в передопераційному періоді, через 6 місяців після втручання спостерігалося поглиблення деструкції мітохондрій, гранулярного й агранулярного

ендоплазматичного ретикулуму, ознаки блокування активності комплексу Гольджі, порушення міжклітинних контактів у складі гермінативної зони епідермісу за рахунок дисоціації десмосом, значний міжклітинний набряк. Явища апоптозу кератиноцитів зустрічалися значно частіше, ніж у передопераційному періоді. Макрофаги, що часто зустрічалися в епідермісі хворих даного контингенту, мали ультраструктурні ознаки високої активності. Через 12 місяців після втручання виразність ультраструктурних змін епідермісу та сполучнотканинного компоненту шкіри хворих групи порівняння збільшувалась незалежно від віку пацієнтів.

Аналіз проліферативної активності кератиноцитів (рис. 7-9) виявив значний оптимізуючий вплив відновлювальних заходів у контрольній групі пацієнтів віком 33-40 років і 41-50 років, а також у хворих з маласезійною інфекцією шкіри обличчя після попередньої антимікотичної терапії.

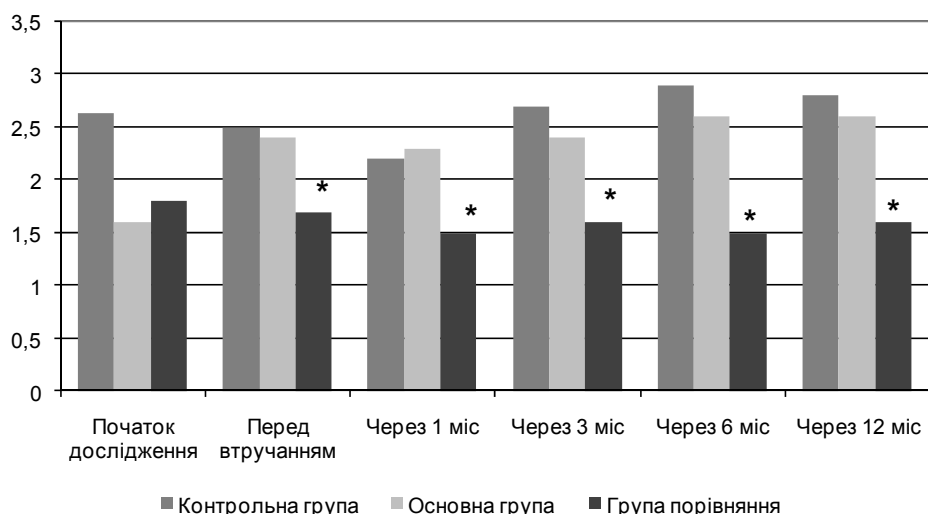


Рис. 7. Динаміка змін мітотичного індексу кератиноцитів (%) у пацієнтів віком 33-40 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною групою і групою порівняння.

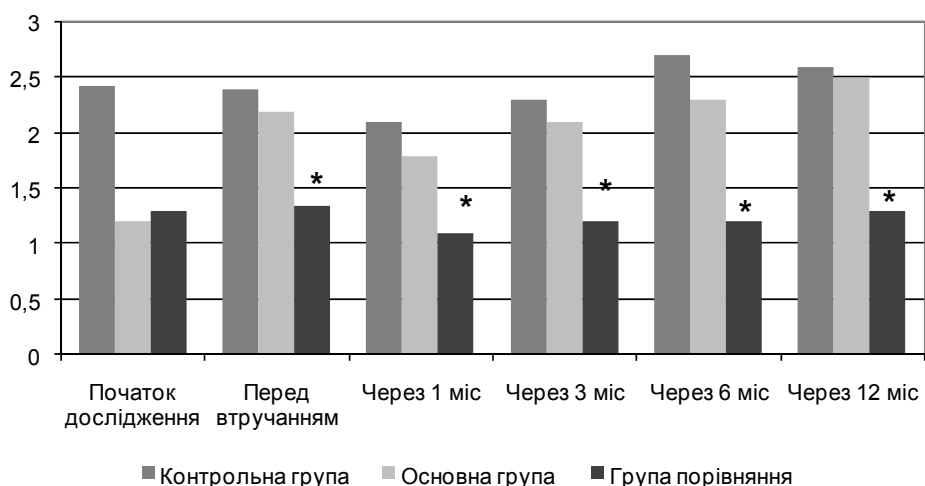


Рис. 8. Динаміка змін мітотичного індексу кератиноцитів (%) у пацієнтів віком 41-50 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною групою і групою порівняння.

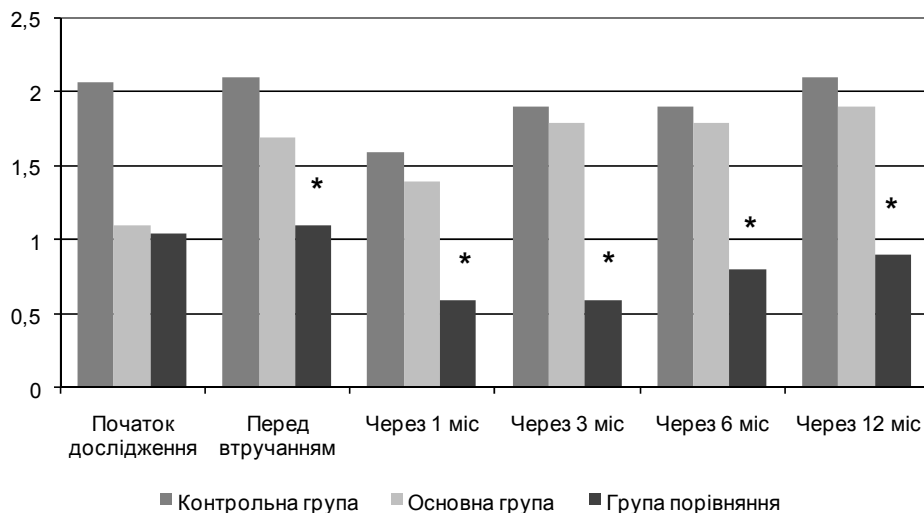


Рис. 9. Динаміка змін мітотичного індексу кератиноцитів (%) у пацієнтів віком 51-57 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною групою і групою порівняння.

Зокрема, протягом 1 місяця передопераційного лікування маласезіозу відбувалося зростання мітотичного індексу кератиноцитів у хворих віком 33-40 років на 50,2% ( $p < 0,05$ ), у пацієнтів віком 41-50 років – на 83,3% ( $p < 0,05$ ), у хворих 51-57 років – на 54,5% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з початковим станом. Мітотична активність епідермісу перед відновлювальним втручанням досягала рівня контрольної групи пацієнтів і залишалася підвищеною протягом всього післяопераційного періоду протягом 1 року. У всіх хворих групи порівняння незалежно від віку пацієнтів спостерігалася тенденція до пригнічення проліферативної активності кератиноцитів протягом 1 року після проведення відновлювальних заходів.

Ультраструктурне визначення ступеня вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони вказувало на суттєвий позитивний вплив відновлювальних заходів у контрольній групі пацієнтів всіх вікових груп, а також у хворих з маласезійною

інфекцією шкіри обличчя після попередньої антимікотичної терапії. Протягом 1 місяця передопераційного лікування маласезіозу відбувалося зниження явищ вакуолізації кератиноцитів. Впродовж 1 року після проведення оперативного втручання у даних хворих спостерігалася обмеження літично-дистрофічних явищ на рівні, що був досягнутий у передопераційному періоді. Навпроти, у групі порівняння через 1 місяць після втручання відзначалося різке вакуолярне ушкодження кератиноцитів, яке у хворих віком 33-40 років перевищувало показник контрольної групи на 114,3% ( $p < 0,05$ ), у пацієнтів віком 41-50 років – на 75,8% ( $p < 0,05$ ), у хворих 51-57 років – на 117,7% ( $p < 0,05$ ). Наприкінці спостережень (через 1 рік після операції) у всіх хворих групи порівняння незалежно від віку пацієнтів ступінь вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони статистично вагомо перевищував відповідні показники основної клінічної групи (рис. 10-12).

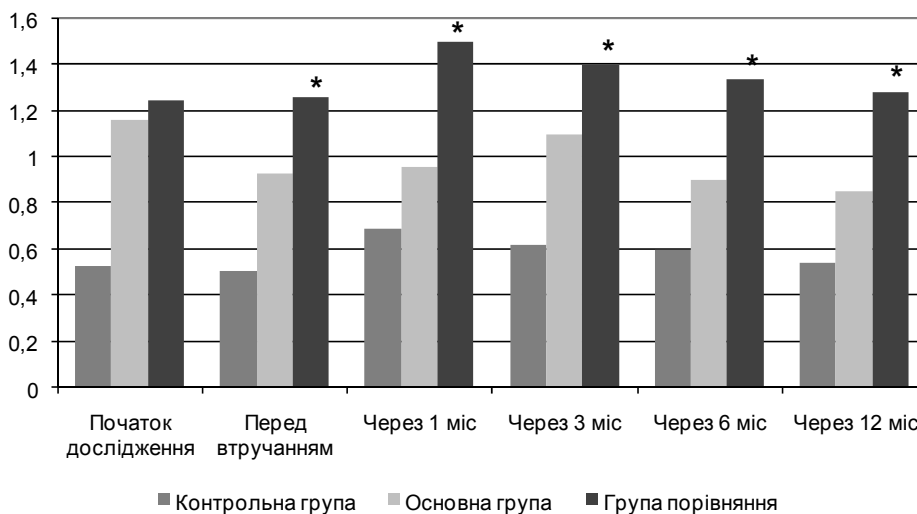


Рис. 10. Динаміка змін ступеня вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони (%) у пацієнтів віком 33-40 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною групою і групою порівняння.

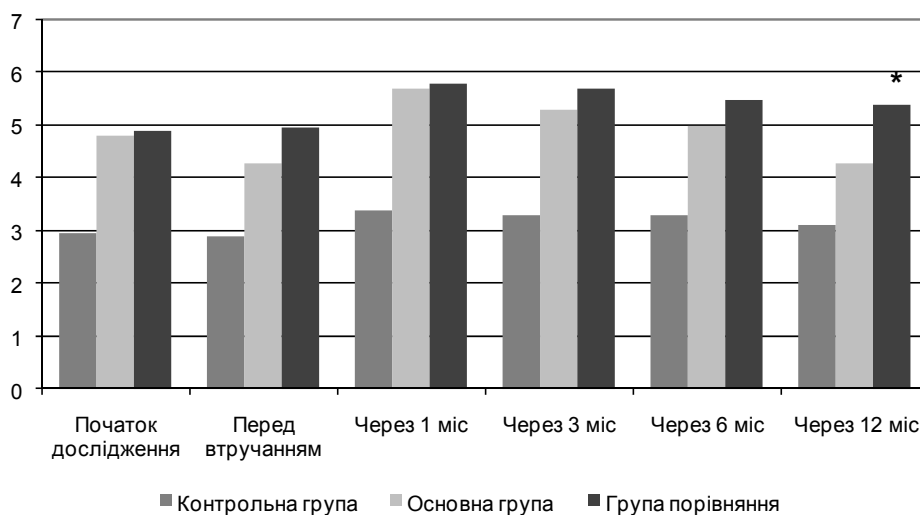


Рис. 11. Динаміка змін ступеня вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони (%) у пацієнтів віком 41-50 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною групою і групою порівняння.

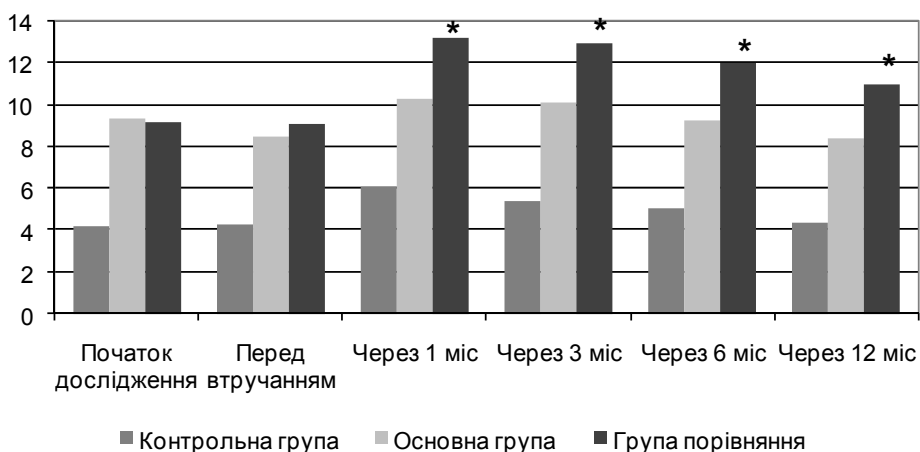


Рис. 12. Динаміка змін ступеня вакуолізації кератиноцитів гермінативної зони (%) у пацієнтів віком 51-57 років. Позначки «\*» вказують на достовірну відмінність між основною групою і групою порівняння.

Схожі за напрямком та діапазоном зміни спостерігалися при вивченні і ультраструктурній морфометрії зовнішнього діаметру венул підсопочкових сплетьєнь шкіри пацієнтів досліджуваних клінічних груп.

У складі дерми пацієнтів основної клінічної групи віком 33-40 років відзначалося поступове упорядкування фіброзних структур протягом післяопераційного періоду, що наприкінці дослідження не відрізнялося від морфологічної картини пацієнтів відповідних за віком контрольних груп. Аналогічні за характером зміни відзначалися у старших вікових групах пацієнтів.

У всіх досліджених вікових категоріях структура дерми у хворих на маласезіоз групи порівняння протягом всього післяопераційного періоду зберігала ознаки дезорієнтації фіброзних комплексів відносно епідермально-дермального з'єднання.

Стан внутрішньосочкових гемокапілярних петель свідчив про відсутність суттєвого впливу

попередньої антимікотичної терапії на діаметр базальних сегментів капілярів як до проведення оперативного втручання, так і протягом наступного післяопераційного періоду. Зокрема, у пацієнтів контрольної групи після втручання відбувалося розширення діаметру капілярів в їх основі з подальшим поступовим відновленням до висхідного рівня. У хворих з маласезіозом незалежно від вікової приналежності спостерігалась аналогічна закономірність як в основній клінічній групі, так і в групі порівняння.

#### Підсумок

Лікування і динамічне обстеження хворих досліджуваного контингенту показали, що специфічна антимікотична терапія протягом 1 місяця перед пластичним втручанням в області обличчя забезпечувала нормалізацію структур шкіри, ушкоджених внаслідок кератомікозу, за рахунок стимуляції мітотичної активності кератиноцитів гермінативної зони та оптимізації епідермального диференціювання з обмеженням ва-



кулізації епітеліальних клітин. Продовження локальної та системної антимікотичної терапії впродовж 1 місяця після втручання супроводжувалось відновленням інволютивних морфологічних змін шкіри та попереджало розвиток реци-

дивів маласезіозу протягом 1 року.

**Перспективи подальших досліджень** пов'язані з вивченням впливу специфічної антимікотичної терапії на структуру шкіри хворих на маласезіоз у різних вікових категоріях пацієнтів.

### Літературні джерела References

1. Jiang LI, Stephens TG, Goodman R. SWIRL, a clinically validated, objective, and quantitative method for facial wrinkle assessment. *Skin Res Technol.* 2013;19(4):492-8.
2. Pessa JE, Nguyen H, John GB, Scherer PE. The anatomical basis for wrinkles. *Aesthet Surg J.* 2014;34(2):227-34.
3. El-Domyati M, Medhat W, Abdel-Wahab HM. Forehead wrinkles: a histological and immunohistochemical evaluation. *J Cosmet Dermatol.* 2014;13(3):188-94.
4. Park JY, Jang YH, Kim YS. Ultrastructural changes in photorejuvenation induced by photodynamic therapy in a photoaged mouse model. *Eur J Dermatol.* 2013;23(4):471-7.
5. Ovchinnikov RS, Manoyan MG, Gaynullina AG. Fungi malassezia in animal diseases: clinical forms, diagnosis. *VetPharma.* 2013;3(14):18-22. Russian.
6. Sosa ML, Rojas F, Mangiaterra M, Giusiano G. Prevalence of Malassezia species associated with seborrheic dermatitis lesions in patients in Argenti-

- na. *Rev Iberoam Micol.* 2013;30(4):239-42.
7. Nikityuk BA, Chtetsov VP, editors. [Human morphology: 2th ed.]. Moscow: Izd-vo MGU; 1990. 368 p. Russian.
8. Mironov AA, Komissarchik YuYa, Mironov VA. *Metodyi elektronnoy mikroskopii v biologii i meditsine: Metodicheskoe rukovodstvo.* [Electron microscopy methods in biology and medicine : Methodological Guide]. St. Petersburg: Science; 1994. 400 p. Russian.
9. Kuo J. *Electron microscopy: methods and protocols.* Totowa, New Jersey: Humana Press Inc. 2007. 608 p.
10. Avtandilov GG. *Meditinskaya morfometriya* [Medical morphometry]. Moscow: Meditsina; 1990. 384 p. Russian.
11. Méndez-Vilas A, Rigoglio NN, Mendes Silva MV. *Current microscopy contributions to advances in science and technology.* Badajoz: Formatex; 2012. 1523 p.
12. Lakin GF. *Biometriya* [Biometrics: 4th ed.]. Moscow : Vysshaya shkola; 1990. 352 p. Russian.

### **Макарчук А.А. Динамика морфологических изменений кожи лица у больных с малассезийной инфекцией на этапах антимикотической и омолаживающей терапии.**

**Реферат.** Целью данного исследования было определение морфологических изменений кожи у больных с малассезийной инфекцией на этапах антимикотической и омолаживающей терапии. У 90 пациентов с инволютивными изменениями кожи лица, в том числе у 60 больных малассезиозом, с использованием электронной микроскопии проведено определение состояния кожи. Установлено, что специфическая противогрибковая терапия в течение 1 месяца перед пластическим вмешательством в области лица обеспечивала нормализацию структур кожи, поврежденных в результате кератомикоза, за счет стимуляции митотической активности кератиноцитов герминативной зоны и оптимизации эпидермальной дифференцировки с ограничением вакуолизации эпителиальных клеток. Продолжение локальной и системной антимикотической терапии в течение 1 месяца после вмешательства сопровождалось восстановлением инволютивных морфологических изменений кожи и предупреждало развитие рецидивов малассезиоза в течение 1 года.

**Ключевые слова:** кожа, инволютивные изменения, малассезийная инфекция, ультраструктура.