

Богомолова А.А.

## **ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ CD3, CD20 И CD68 ПРИ ПРОЯВЛЕНИЯХ АУТОИММУННЫХ ДЕРМАТОЗОВ НА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ РТА**

Научные руководители: к.м.н., доцент Казеко Л. А., к.м.н., доцент Летковская Т. А.

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск*

**Аннотация.** Дифференциальная диагностика заболеваний слизистой оболочки рта представляет собой трудную задачу для врача-стоматолога. Одним из перспективных методов является иммуногистохимическое исследование биопсийного материала, при котором определяется состав воспалительного инфильтрата по экспрессии маркёров на поверхности клеток. Нами проведен качественный и количественный анализ воспалительного клеточного инфильтрата при аутоиммунных дерматозах слизистой оболочки рта (плоский лишай, лихеноидные реакции, буллезные поражения). Рассчитаны показатели позитивности и общего индекса интенсивности ИГХ-реакции, а также проведено сравнение показателей между группами по критерию Манна-Уитни. Установлено, что для данных групп патологии характерна высокая экспрессия Т- и В-лимфоцитов как в строме, так и в эпителии на фоне снижения макрофагальной защиты. В дальнейшем данные исследования могут использоваться для разработки методов патогенетической терапии и экспресс-диагностики.

**Ключевые слова:** лимфоциты, биоптаты, макрофаги, CD3, CD20, CD68, экспрессия, аутоиммунные дерматозы.

**Введение.** Заболевания слизистой оболочки рта представляют собой разнородную группу редких патологий с различным патогенезом. Они объединены рядом особенностей: схожестью клинических проявлений, наличием атипичных форм, упорным рецидивирующим течением, низкой эффективностью лечения и склонностью к малигнизации. Среди этих патологий выделяют группу аутоиммунных дерматозов, в основе патогенеза которых лежит поражение компонентов слизистой аутореактивными иммунными клетками. К ним относятся плоский лишай слизистой оболочки рта (ПЛ СОР), буллезные дерматозы (пемфигоид, пузырчатка), а также лихеноидные реакции. Довольно часто первые проявления аутоиммунных дерматозов возникают на слизистой оболочке рта (по некоторым данным, в 60-80% случаев буллезные поражения слизистой оболочки рта являются начальным признаком заболевания [1]). Присутствующее в области поражений хроническое воспаление провоцирует повреждение генетического аппарата клеток эпителия, что может привести к неопластическим изменениям, риск малигнизации при плоском лишае составляет от 0,3 до 12,5% [2, 3].

Дифференциальная диагностика заболеваний слизистой оболочки рта для врача-стоматолога представляет собой трудную задачу в связи со схожестью проявлений. Клиническое обследование не позволяет точно поставить диагноз, по его результатам можно лишь заподозрить заболевание. В настоящее время одним из наиболее доступных и точных методов диагностики является гистологический метод исследования биопсийного материала. «Золотым стандартом» в дифференциальной диагностике считается иммуногистохимическое исследование/ИГХ-исследование. Данная методика позволяет определить экспрессию маркёров, провести качественную и количественную оценку воспалительного инфильтрата. ИГХ-исследование широко используется в научных целях [4, 5] для определения характерных особенностей воспалительного инфильтрата при патологиях СО, поиска характерных особенностей для каждой из патологий для облегчения дифференциальной диагностики.

**Цель исследования.** Установить характер экспрессии CD3, CD20 и CD68 при патологии слизистой оболочки рта.

**Материал и методы.** Материалом для исследования послужили биоптаты слизистой оболочки рта пациентов с проявлениями аутоиммунных дерматозов на СОР, находившихся на лечении на кафедре консервативной стоматологии УО БГМУ. Нами был исследован 21 биоптат. Все пациенты были разделены на 3 группы в соответствии с формой патологии. Количественный состав групп приведен в таблице 1. Обращаем внимание, что буллезная форма плоского лишая включена как в группу плоского лишая, так и в группу буллезных поражений, поскольку вопрос о классификации данной формы остается дискуссионным в научном сообществе.

**Таблица 1.** Характеристика исследованных групп

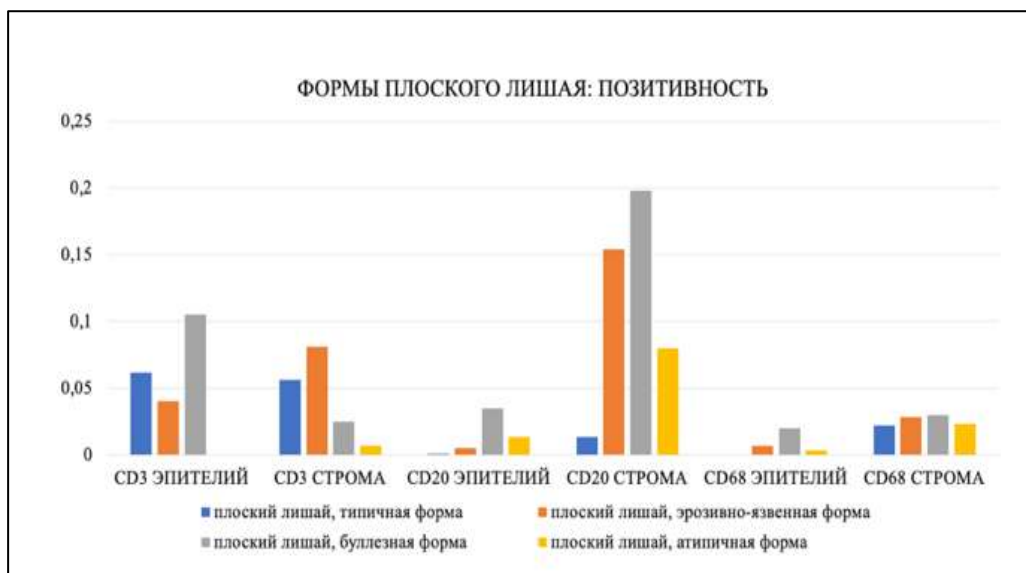
Группа	Патология	Количество биоптатов
Плоский лишай/ПЛ	ПЛ, типичная форма	6
	ПЛ, буллезная форма	2
	ПЛ, эрозивно-язвенная форма	4
	ПЛ, типичная форма	1
Лихеноидные реакции/ЛР	Лихеноидные реакции	2
Буллезные поражения/БП	ПЛ, буллезная форма	2
	Буллезный пемфигоид	4

Проведено ИГХ исследование на серийных парафиновых срезах с использованием моноклональных антител к CD3, CD20 и CD68 на базе кафедры патологической анатомии и судебной медицины с курсом повышения квалификации и переподготовки УО БГМУ. При проведении ИГХ окрашивания в качестве позитивного контроля для каждого из маркеров использовали ткани и органы, рекомендованные производителем антител, в качестве негативного контроля – исключение первичного антитела. В качестве визуализирующей системы использовали Uno-Uue (фирма Diagnostic Biosystems). ИГХ исследование проводили в соответствии с протоколами, созданными в процессе отработки, в результате которой для каждого первичного антитела было установлено оптимальное рН, время экспозиции в демаскировочном буфере, оптимальное разведение и время экспозиции с диаминобензином/ДАБ. Для морфометрического анализа выполняли сканирование препаратов с применением цифрового слайд-сканера MoticEasyScan с последующим программным анализом экспрессии маркера в материале ткани десны с использованием AperioImageScore v.12.4.0.5043. Сканирование гистологических препаратов осуществлялось в автоматическом режиме на увеличении, эквивалентном физическому увеличению объектива микроскопа x40. Использован режим автоматического распознавания образца в гистологическом препарате. Остальные настройки слайдсканера – «по умолчанию». Статистический анализ выполнен с использованием программы Statistica 10.

Для каждой группы были рассчитаны позитивность и общая интенсивность ИГХ-реакции. Позитивность – отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей. Общая интенсивность ИГХ-реакции – отношение суммы интенсивностей негативных и позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей.

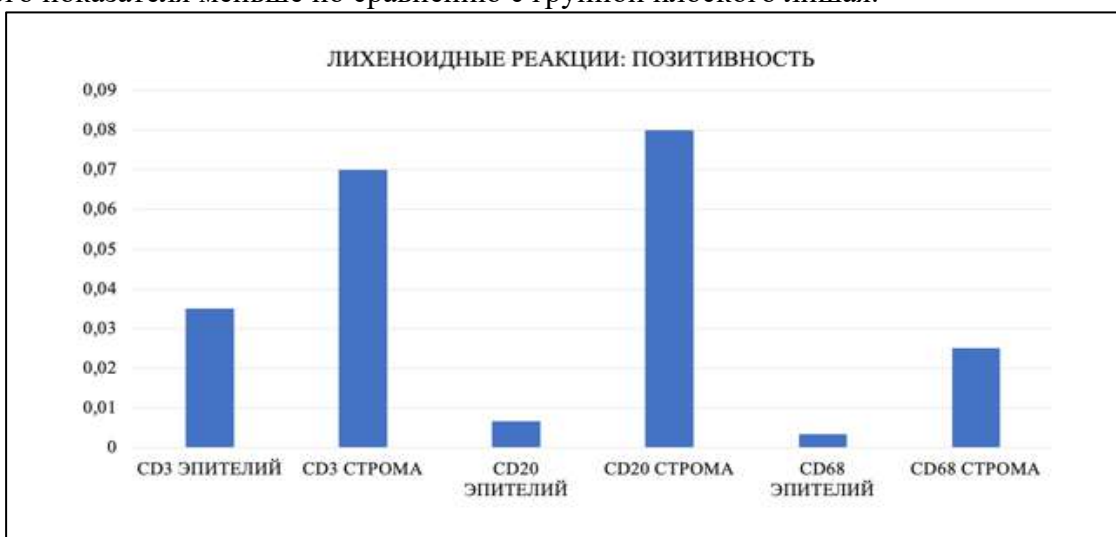
Расчет критерия Манна-Уитни проводился для сравнения параметров групп плоского лишая и буллезных поражений. Сравнение с лихеноидными реакциями не проводилось, поскольку данная группа не содержит достаточное количество биопсий для соответствия критерию Манна-Уитни (минимальное количество – 3). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** В группе ПЛ показатель позитивности достигает наибольших значений при буллезной и эрозивно-язвенной формах. Среди всех маркёров позитивность максимальна для стромального CD20 (0,198 при буллезной форме) и CD3 (эпителиального – 0,105 при буллезной форме и стромального – 0,808 при эрозивно-язвенной форме) (рисунок 1).



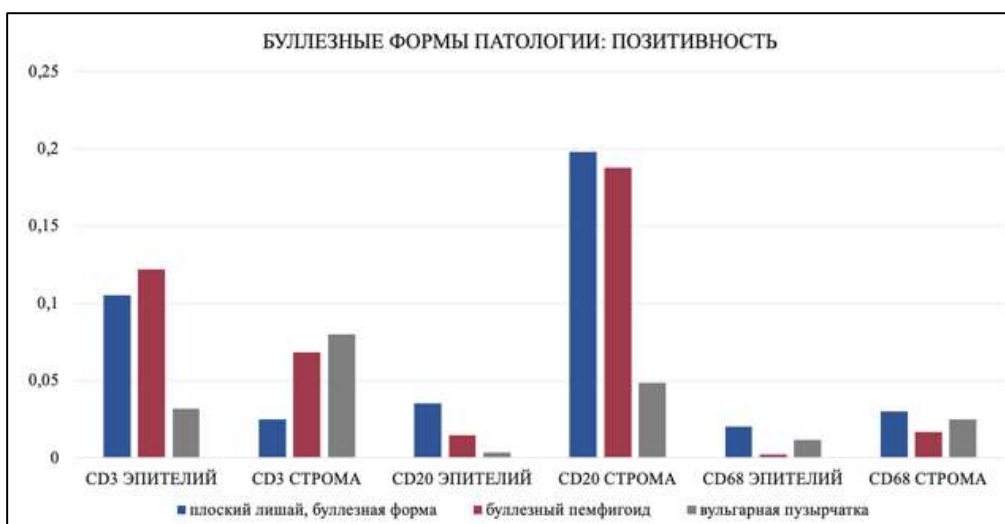
**Рисунок 1.** Позитивность исследуемых маркеров в эпителии и строме при плоском лишае

Для группы лихеноидных реакций максимальная позитивность наблюдается для стромальных CD3 (0,07) и CD20 (0,08) и эпителиального CD3 (0,035) (рисунок 2). Значения данного показателя меньше по сравнению с группой плоского лишае.



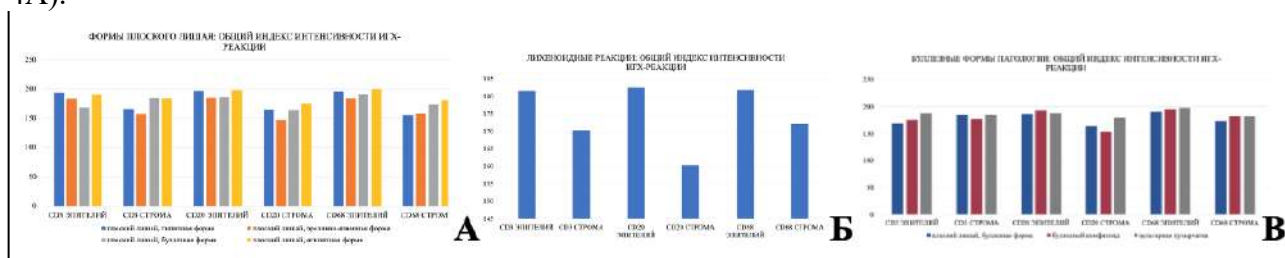
**Рисунок 2.** Позитивность исследуемых маркеров в эпителии и строме при лихеноидных реакциях

В группе буллезных поражений показатель позитивности достигает максимальных значений буллезной форме ПЛ и БП. Среди маркёров данный показатель наибольший для стромального CD20 (0,198 при буллезной форме ПЛ, 0,188 при БП) и эпителиального CD3 (0,105 при буллезной форме ПЛ и 0,122 при БП) (рисунок 3).



**Рисунок 3.** Позитивность исследуемых маркеров в эпителии и строме при буллезных формах патологии

Общий индекс интенсивности ИГХ-реакции в группе плоского лишая максимален для типичной и атипичной форм. Наибольшие значения показателя общей интенсивности ИГХ-реакции наблюдаются для эпителиальных CD3 (193,0 типичная форма и 190,3 атипичная), CD20 (196,6 типичная, 198,5 атипичная) и CD68 (195,3 типичная и 199,8 атипичная) (рисунок 4А).



**Рисунок 4.** Общий индекс ИГХ-реакции исследуемых маркёров в эпителии и строме при: А – ПЛ, Б – ЛР, В – БП

Общий индекс интенсивности при лихеноидных реакциях достигает максимальных значений для эпителиальных CD20 (182,6) и CD68 (181,9). (рисунок 4Б).

Общий индекс интенсивности ИГХ-реакции наибольший при вульгарной пузырчатке, среди маркёров он максимален для эпителиальных CD68 (198,6) и CD3 (188,5) (рисунок 4В).

При сравнении показателей позитивности в группах ПЛ и буллезных поражений при помощи критерия Манна-Уитни выявлены статистически значимые отличия по всем маркерам, за исключением эпителиального CD3. Статистически значимые различия между показателями общей интенсивности ИГХ-реакции при сравнении в тех же группах выявлены по CD3 и стромальному CD68. Критерий Манна-Уитни для всех маркёров представлен в таблице 2.

**Таблица 2.** Критерий Манна-Уитни для сравнения показателей в группах ПЛ и БП

	Маркёр	Значение p при сравнении позитивности	Значение p при сравнении общего индекса ИГХ-реакции
Эпителий	CD3	0,051	0,028
	CD20	0,0013	0,102
	CD68	0,0000059	0,116
Строма	CD3	0,0035	0,0063
	CD20	0,0084	0,079
	CD68	0,018	0,0011

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют об активном участии в патогенезе иммунных форм заболеваний СОР стромальных Т- и В-лимфоцитов и эпителиальных Т-лимфоцитов на фоне снижения макрофагальной защиты. По изученным показателям имеются статистически значимые различия. Планируется дальнейшее изучение темы для углубления

представлений о патогенезе и морфогенезе проявлений аутоиммунных дерматозов на СОР, что позволит улучшить результаты лечения этих патологий.

**Список литературы:**

1. Ритуксимаб в лечении ребенка с вульгарной пузырчаткой: клиническое наблюдение / Н. Н. Мурашкин [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2022. – Т. 21. – № 5. – С. 407–413.
2. Evaluation of the Distribution of Candida Species in Patients with Dysplastic and Nondysplastic Oral Lichen Planus Lesions / F. Rezazadeh [et al.] // BioMed Research International. – 2022. – Vol. 2022. – 6 p.
3. Diagnostic Criteria of Oral Lichen Planus: a Narrative Review / D. I. Rotaru [et al.] // Acta clinica Croatica. – 2020. – Vol. 3. – P. 513–522.
4. Langerhans Cells, T Cells, and B Cells in Oral Lichen Planus and Oral Leukoplakia / Amal Dafar [et al.] // International Journal of Dentistry. – 2022. – Vol. 2022. – Article ID 5430309. – 8 pages.
5. CD-1a immunoeexpression in oral lichen planus and oral lichenoid reaction / A. Majidian [et al.] // Caspian Journal of Dental Research. – 2020. – Vol. 2. – P. 26–34.