

Богомолова А.А., Казеко Л.А., Летковская Т.А.
КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЛИМФОГИСТИОЦИТАРНОГО ИНФИЛЬТРАТА
ПРИ АУТОИММУННЫХ ДЕРМАТОЗАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Актуальность. Заболевания слизистой оболочки рта представляют собой разнородную группу патологических состояний. Они имеют различный этиопатогенез, однако часто схожи по клиническим проявлениям, могут носить упорный рецидивирующий характер, плохо поддаются лечению и склонны к малигнизации. Это определяет трудности в раннем выявлении патологии и ее дифференциальной диагностике. Для облегчения данной задачи и улучшения прогноза для данных групп пациентов в фундаментальной науке активно изучается роль иммунной системы и ее компонентов в патогенезе заболеваний слизистой, в том числе и аутоиммунных дерматозов. Исследование гистологических препаратов, прошедших иммуногистохимическое окрашивание, позволяет определить экспрессию различных иммунных клеток и биологически активных молекул в различных слоях слизистой оболочки. Так, в проведенных ранее исследованиях было установлено, что при плоском лишае значительная экспрессия CD3 наблюдается в строме и эпителии, а также CD20 в строме [1]. Это связано с тем, что плоский лишай является Т-клеточным заболеванием, при котором происходит формирование лихеноидного инфильтрата вблизи границы эпителия и стромы, аутоиммунное разрушение базальной мембраны с последующем проникновением Т-лимфоцитов в эпителий и повреждение кератиноцитов [2]. Более того, иммуногистохимическое исследование биоптатов позволит определять состояние поражения, поскольку ранее установлено, что экспрессия Т-лимфоцитов наблюдается при буллезных дерматозах у пациентов с активной фазой заболевания и практически отсутствует в стадию ремиссии и у пациентов, находящихся на супрессивной терапии [3]. Знание закономерностей и характера воспалительного инфильтрата могут быть использованы для разработки патогенетической терапии данных заболеваний. Так, наравне с глюкокортикостероидной терапией используются препараты

моноклональных антител ритуксимаб и омализумаб при лечении буллезного пемфигоида и вульгарной пузырчатки [3]. Таким образом, изучение экспрессии иммунокомпетентных клеток является актуальным направлением фундаментальной науки, поскольку полученные результаты могут быть использованы для разработки методов ранней диагностики и специфической терапии.

Цель исследования – установить характер экспрессии CD3, CD20 и CD68 при проявлениях аутоиммунных дерматозов на слизистой оболочке рта/СОР.

Материалы и методы. Был исследован 21 биоптат слизистой оболочки рта на маркёры CD3, CD20 и CD68, полученный от пациентов, находившихся на лечении на кафедре консервативной стоматологии УО БГМУ. Для анализа были выбраны Т- и В-лимфоциты, а также макрофаги, на поверхности которых экспрессируются соответственно CD3, CD20 и CD68 антигены.

Пациенты были разделены на 3 группы в соответствии с нозологической формой: плоский лишай (ПЛ), лихеноидные реакции (ЛР) и буллезные поражения. Обращаем внимание, что буллезная форма ПЛ входит в группы как и ПЛ, так и буллезных поражений, поскольку вопрос ее классификации остается дискуссионным. Количественный состав групп представлен в таблице 1.

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

Таблица 1. Характеристика исследованных групп

Далее проводилось иммуногистохимическое исследование на серийных парафиновых срезах с использованием моноклональных антител к CD3, CD20 и CD68. Для морфометрического анализа выполняли сканирование препаратов с применением цифрового слайд-сканера MotiEasyScan с последующим программным анализом экспрессии маркёров в материале слизистой оболочки рта с использованием AperioImageScore v.12.4.0.5043. Статистический анализ проведен в программе Statistica 10.

Рассчитаны следующие показатели:

1. Доля пикселей с высокой и умеренной интенсивностью – отношение числа позитивных пикселей с высокой и умеренной интенсивностью к общему числу позитивных и негативных пикселей, %.

2. Индекс интенсивности в иммунопозитивных участках – отношение суммы интенсивностей пикселей с высокой, средней и низкой интенсивностью к числу позитивных 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 и их обсуждение. Доля пикселей с высокой и средней позитивностью в группе плоского лишая достигает наибольших значений при буллезной, эрозивно-язвенной и типичной формах, в группе буллезных патологий – при буллезной форме ПЛ и буллезном пемфигоиде.

Для буллезной формы плоского лишая данный показатель максимален по стромальному CD20, для эрозивно-язвенной – по стромальным CD3 и CD20, для типичной – по эпителиальному и стромальному CD3. В группе лихеноидных реакций максимальный показатель меньше по сравнению с максимальными показателями в других группах, наибольший для стромальных CD3 и CD20 (рисунок 1).

Статистически значимые отличия показателя наблюдаются по стромальным CD3 ($p = 0,00768$) и CD68 ($p = 0,000295$).

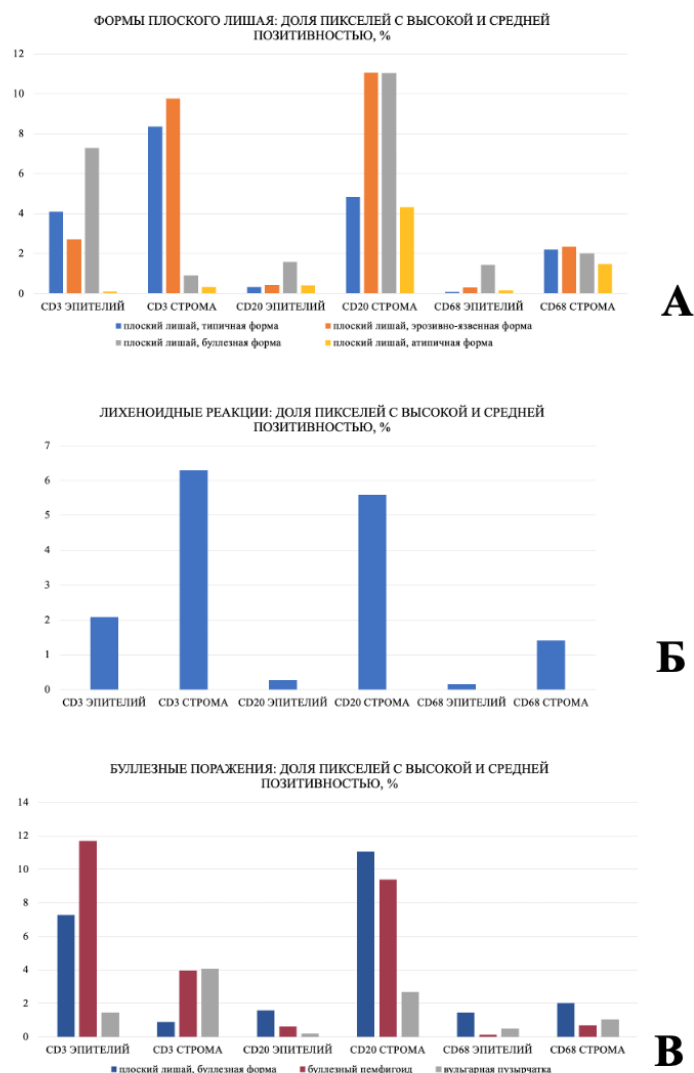


Рисунок 1. Показатель доли пикселей с высокой и средней позитивностью в группах:
А – плоского лишая; Б – лихеноидных реакций; В – буллезных патологий

Индекс интенсивности в иммунопозитивных участках достигает наивысших значений при типичной форме ПЛ – по стромальному CD3, при буллезной – по стромальному CD68, атипичной форме – по всем эпителиальным маркерам и стромальному CD20.

При лихеноидных реакциях показатель максимален для эпителиального CD20 и стромального CD68.

В группе буллезных патологий наибольший для буллезного пемфигоида по CD68, по остальным маркерам показатель максимален при вульгарной пузырчатке (рисунок 2).

Статистически значимые различия по индексу интенсивности в иммунопозитивных участках отмечаются для эпителиального CD3 ($p = 0,00768$) и стромального CD68 ($p = 0,0010546$).

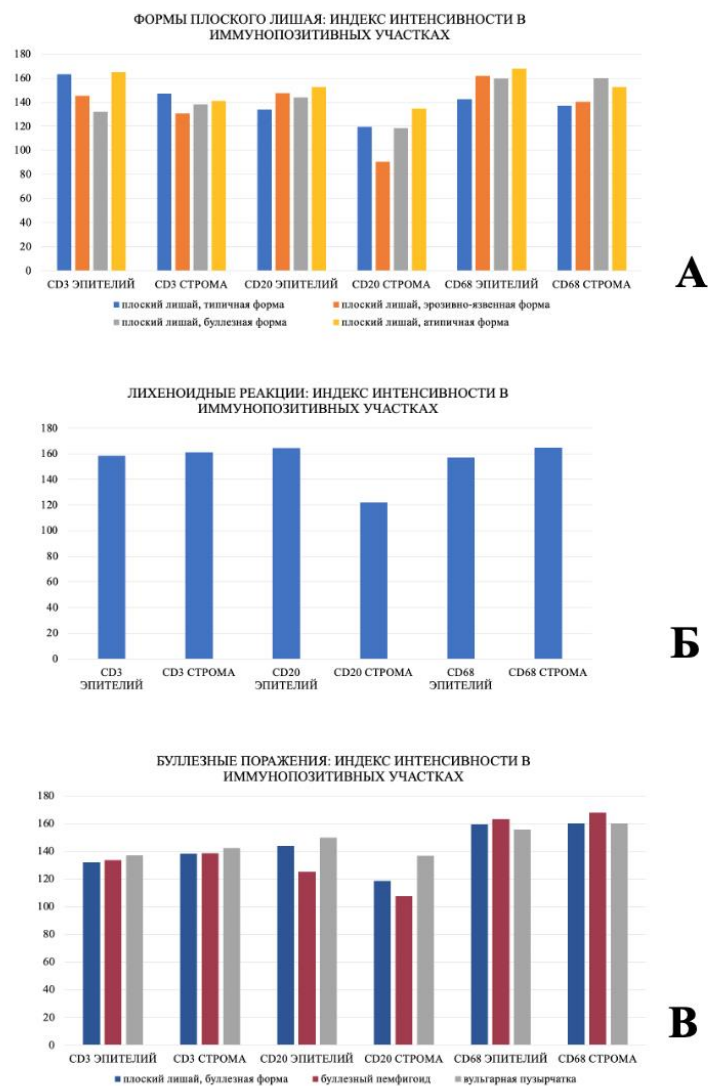


Рисунок 2. Показатель индекса интенсивности в иммунопозитивных участках в группах:
А – плоского лишая; Б – лихеноидных реакций; В – буллезных патологий

По результатам исследования нами отмечено следующее: при типичной форме ПЛ наиболее выражена экспрессия CD3-клеток, что согласуется с ключевой ролью клеточного иммунного ответа в патогенезе ПЛ. Для эрозивно-язвенной формы, помимо высокой экспрессии Т-лимфоцитов, наблюдается высокая экспрессия стромальных CD20, что связано с их участием в гуморальном иммунном ответе с деструкцией тканей слизистой. Атипичная форма характеризуется высокой экспрессией стромальных CD20 при низкой экспрессии других факторов. При буллезной форме плоского лишая нами отмечена высокая экспрессия стромальных В-лимфоцитов и эпителиальных Т-лимфоцитов. Аналогичная структура воспалительного инфильтрата характерна для других буллезных патологий, в чьем патогенезе центральная роль принадлежит антитело-зависимому разрушению межклеточных связей и базальной мембраны. Однако при буллезной форме ПЛ наблюдаются «пограничные изменения», не характерные другим буллезным патологиям. Что касается экспрессии макрофагов, на фоне экспрессии других маркёров ее уровень значительно ниже. Среди всех форм патологии она наиболее значительна при буллезной форме плоского лишая.

В ранее проведенных исследованиях установлено, что экспрессия CD3 клеток обнаруживается как в эпителии, так и в строме со значительным преобладанием в последней. Экспрессия CD20 отмечается реже, ее уровень в эпителии незначителен, в отличие от стромы. Исследователи предполагают, что высокий уровень В-клеток может

играть важную роль в поддержании воспаления при плоском лишае. Также в ранее опубликованных работах указывается на немаловажную роль в развитии ПЛ нарушений иммунного статуса, среди них – снижение количества защитных факторов, регулирующих иммунный ответ (ИЛ-10, ИЛ-12, α 2-макроглобулин) и популяции моноклеарных клеток (CD50, CD54).

При лихеноидных реакциях наиболее выражена экспрессия CD3 как в эпителии, так и в строме, а также экспрессия стромальных CD20. Уровень экспрессии при ЛР вдвое ниже, чем в группе плоского лишая по аналогичным маркёрам. Подобные наблюдения отмечены и другими исследователями: экспрессия CD20 значительно выше в области поражений КПЛ по сравнению с острыми и хроническими реакциями «трансплантат против хозяина» и здоровой слизистой.

Воспалительный инфильтрат при буллезном пемфигоиде характеризуется высокой экспрессией эпителиального CD3 и стромального CD20, а также стромального CD3. При вульгарной пузырчатке наблюдается значительная экспрессия стромальных Т- и В-лимфоцитов, а также эпителиальных Т-лимфоцитов на более низких значениях. Высокая экспрессия Т-лимфоцитов отмечается и другими исследователями, поскольку они стимулируют В-клетки к продукции антител.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют об активном участии в патогенезе иммунных форм заболеваний слизистой оболочки рта стромальных Т- и В-лимфоцитов и эпителиальных Т-лимфоцитов на фоне недостаточной макрофагальной защиты. По изученным показателям имеются статистически значимые различия. Планируется дальнейшее изучение данной темы для углубления представлений о патогенезе и морфогенезе аутоиммунных дерматозов слизистой оболочки полости рта, что крайне необходимо для улучшения результатов лечения этой патологии.

Литература

1. Langerhans Cells, T Cells, and B Cells in Oral Lichen Planus and Oral Leukoplakia / A. Dafar [et al.] // Hindawi International Journal of Dentistry. – 2022. – Vol. 2022. – Article ID 5430309. – 8 pages.
2. Active inflammatory biomarkers in oral lichen planus / A. Santarelli [et al.] // International Journal of Immunopathology and Pharmacology. – 2015. – Vol. 28. – P. 562–568.
3. Fang, H., Li, Q., Wang, G.. The role of T cells in pemphigus vulgaris and bullous pemphigoid / H. Fang, Q. Li, G. Wang // Autoimmunity Reviews. – 2020. – Vol.19, iss. 11. – P.1– 9.

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный
исследовательский университет»

Стоматологическая Ассоциация России
Белгородская региональная общественная организация
«Стоматологическая ассоциация»

СТОМАТОЛОГИЯ СЛАВЯНСКИХ ГОСУДАРСТВ

Сборник трудов
XVII Международной научно-практической конференции



Белгород 2024