

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ CD3, CD20 И CD68 ПРИ АУТОИММУННЫХ ДЕРМАТОЗАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА

В.В. Короткова, А.А. Богомолова

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Кафедра консервативной стоматологии

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

Резюме. Рассчитаны и проанализированы показатели позитивности экспрессии и общего индекса интенсивности ИГХ-реакции по трем маркерам (CD3, CD20 и CD68) при плоском лишае, лихеноидных реакциях и буллезных патологиях. Полученные данные свидетельствуют об активном вкладе специфического клеточного и гуморального иммунитета в патогенез заболеваний слизистой и снижении при данных патологиях уровня макрофагальной защиты.

Ключевые слова: слизистая оболочка рта, дерматозы, экспрессия, CD3, CD20, CD68, инфильтрат, макрофаги, лимфоциты.

QUANTITATIVE ASSESSMENT OF CD3, CD20 AND CD68 EXPRESSION IN AUTOIMMUNE DERMATOSES OF THE ORAL MUCOSA

V.V. Korotkova, A.A. Bogomolova

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Department of Conservative Dentistry

Tutors – PhD, associate professor L.A. Kazeko, PhD, associate professor T.A. Letkovskaya

Abstract: The indices of expression positivity and the general index of IHC reaction intensity for three markers (CD3, CD20 and CD68) were calculated and analyzed in lichen planus, lichenoid reactions and bullous pathologies. The obtained data indicate an active contribution of specific cellular and humoral immunity to the pathogenesis of mucosal diseases and a decrease in the level of macrophage protection in these pathologies.

Key words: oral mucosa, dermatoses, expression, CD3, CD20, CD68, infiltrate, macrophages, lymphocytes.

Введение. Диагностика заболеваний слизистой оболочки рта (СОР) представляет собой непростую задачу для врача-стоматолога в связи с особенностями данных патологий: они схожи по клиническим проявлениям, склонны к рецидивированию и малигнизации, плохо поддаются лечению, а также наличием атипичных форм и форм, сочетающих в себе признаки нескольких заболеваний (например, буллезная форма плоского лишая [1]). Это обуславливает трудности в

ранней и дифференциальной диагностике. Клиническое обследование позволяет лишь заподозрить заболевание [2, 3]. Наиболее точным из доступных методов является гистологический метод изучения биопсийного материала.

«Золотым стандартом» в дифференциальной диагностике считается иммуногистохимическое исследование/ИГХ-исследование [2]. Этот метод позволяет определить качественный и количественный состав воспалительного инфильтрата на основании экспрессии маркёров компонентов иммунной системы. В настоящее время данный метод активно используется учеными ближнего и дальнего зарубежья [2-5] для поиска характерных особенностей инфильтрата при проявлениях дерматозов на СОР, в основе патогенеза которых лежит аутоиммунная агрессия. 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: определить характер экспрессии CD3, CD20 и CD68 при проявлениях аутоиммунных дерматозов на СОР.

Материалы и методы:

Исследован 21 биоптат слизистой оболочки рта, полученный у пациентов, проходивших лечение на клинической базе кафедры 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.

Нами было выделено 3 группы пациентов в соответствии с нозологической формой, качественный и количественный состав групп представлен в таблице 1. Обращаем ваше 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 – Состав исследуемых групп

Группа	Патология	Количество биоптатов
Плоский лишай	Плоский типичный	

ша й/П Л	ая фо рма	
	ПЛ , бул лез ная фо рма	
	ПЛ , эро зив но- язв енн ая фо рма	
	ПЛ , тип ичн ая фо рма	
Лих ено идн ые реа кци и/Л Р	Ли хен оид ны е реа кци и	

Бул лез ные пор аже ния /БП	Пл , бул лез ная фо рма	
	Бул лез ны й пем фиг оид	
	Вул ьга рна я пуз ыр чат ка	

Далее в лаборатории кафедры патологической анатомии и судебной медицины с курсом повышения квалификации и переподготовки УО БГМУ 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 MoticEasyScan с последующим программным анализом экспрессии маркёров в материале слизистой оболочки рта с использованием AperioImageScope v.12.4.0.5043. Статистический анализ проведен в программе Statistica 10.

Рассчитаны следующие показатели:

1. Позитивность – отношение числа позитивных пикселей к общему числу позитивных и негативных пикселей, %.
2. 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 плоского лишая наибольших значений показатель позитивности достигает при буллезной и эрозивно-язвенной формах, в группе буллезных патологий – при буллезном пемфигоиде и буллезной форме плоского лишая (рисунок 1).

Среди маркеров наибольшая экспрессия отмечается для стромального CD20 во всех группах, а также для эпителиального CD3 в группах ПЛ и БП и стромального CD3 в группе лихеноидных реакций.

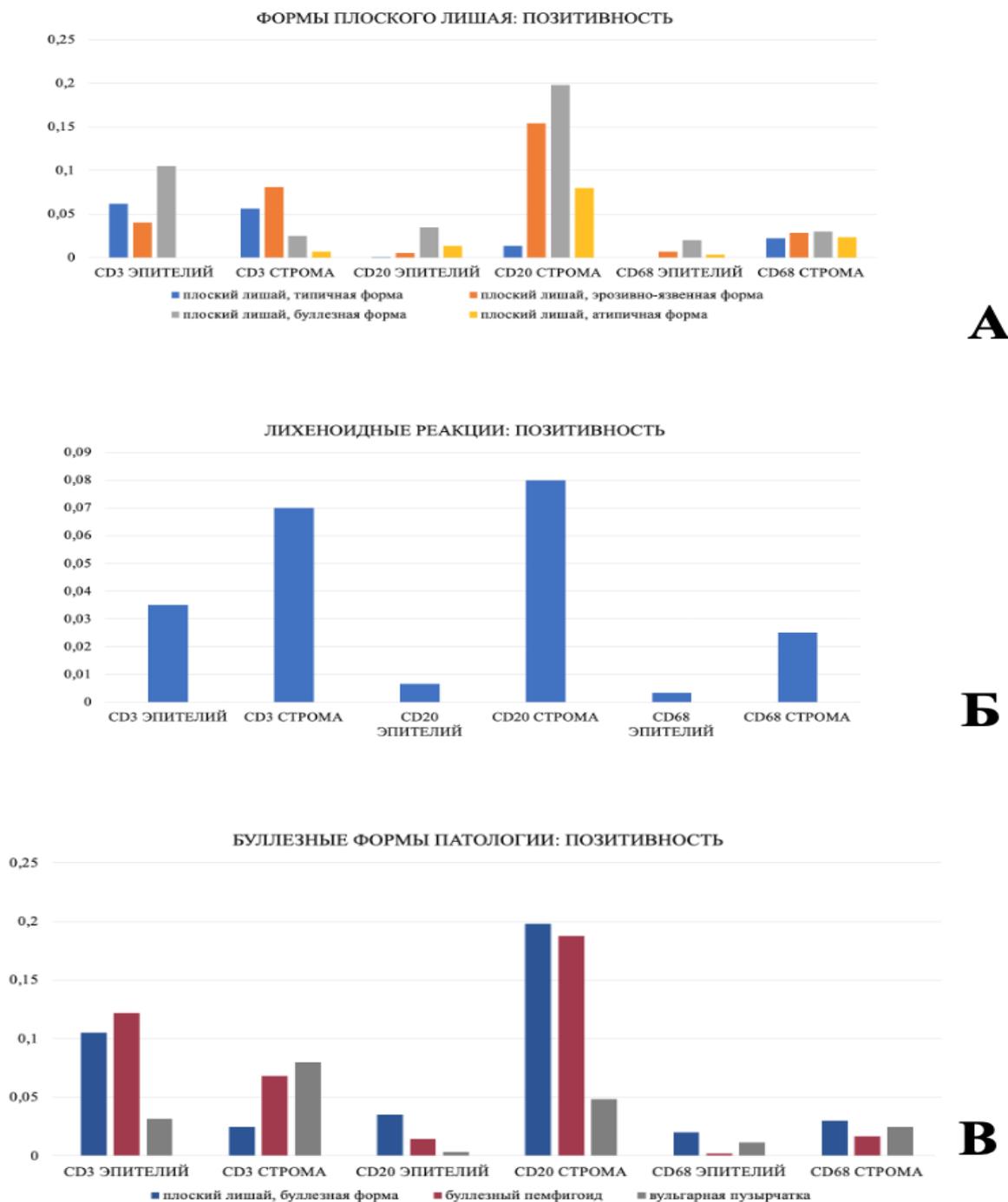


Рисунок 1 – Показатель позитивности в группах: А – плоского лишая; Б – лихеноидных реакций; В – буллезных патологий

Общий индекс интенсивности ИГХ-реакции имеет наибольшие значения при типичной и атипичной формах плоского лишая, в группе буллезных патологий максимальный показатель варьирует в зависимости от маркера. Данный показатель в группе лихеноидных реакций имеет меньшее максимальное значение по сравнению с другими группами (рисунок 2).

Среди маркеров в группе плоского лишая и лихеноидных реакций общий индекс интенсивности ИГХ-реакции максимален для эпителиальных CD20 и CD68.

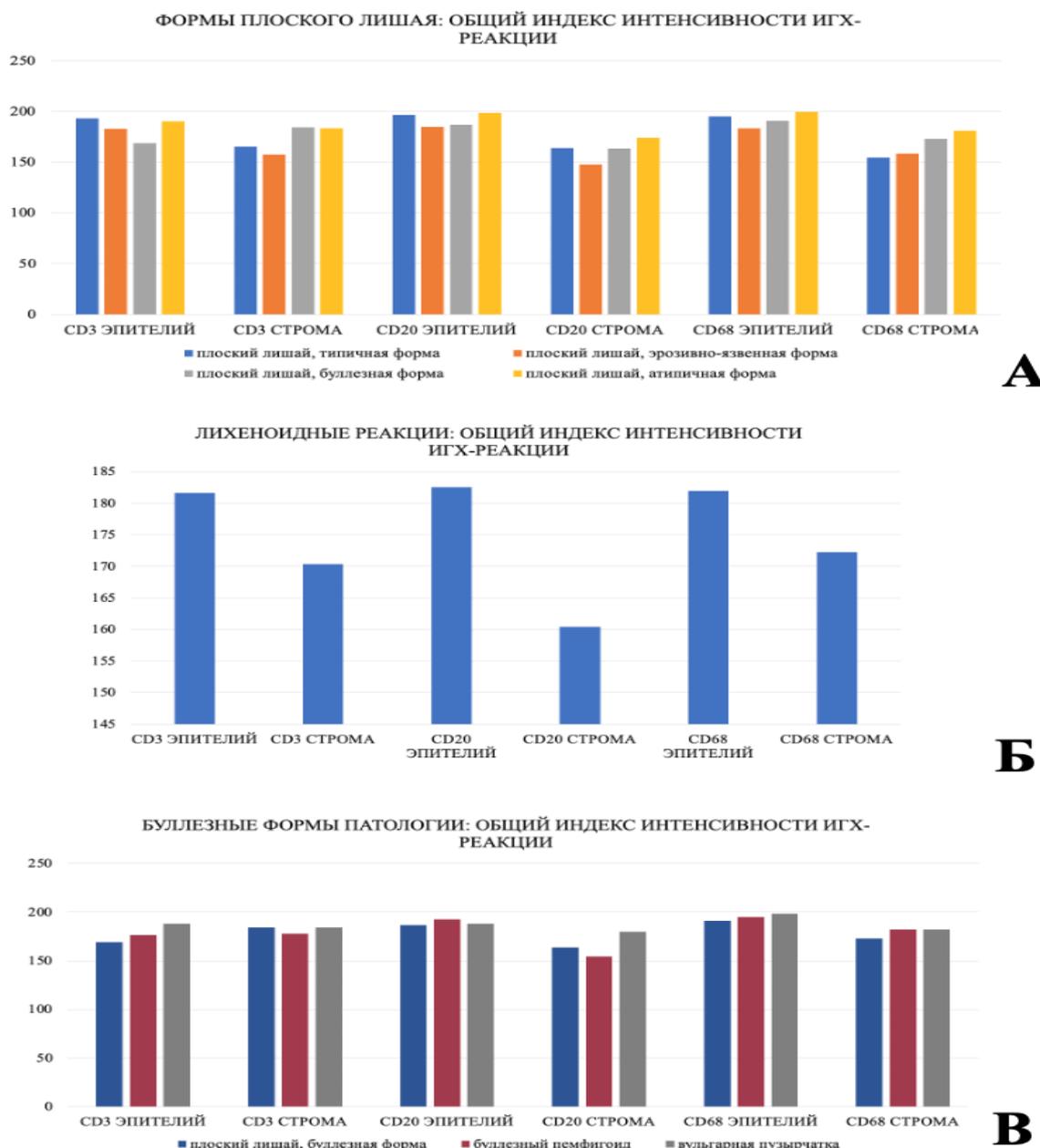


Рисунок 2 – Показатели общего индекса интенсивности ИГХ-реакции в группах: А – плоского лишая; Б – лихеноидных реакций; В – буллезных патологий

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

Ма	Значение р при сравнении позитивности	Значение р при сравнении общего индекса ИГХ-реакции
----	---------------------------------------	---

Э п и т е л л й	Р к ё р		
	С D 3		
	С D 2 0		
С т р о м а	С D 6 8		
	С D 3		
	С D 2 0		
	С D 6 8		
	С D 3		
	С D 2 0		

Обсуждение

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

T-лимфоцитов. Аналогичная структура воспалительного инфильтрата характерна для других буллезных патологий, в чем 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 [4]. 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 мононуклеарных клеток (CD50, CD54) [6].

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 [4]. Другими исследователями отмечаются и другие особенности инфильтрата при лихеноидных реакциях: инфильтрат содержит больше эозинофилов, плазматических клеток и гранулоцитов по сравнению с инфильтратом при ПЛ, различия являются статистически значимыми [7].

Воспалительный инфильтрат при буллезном пемфигоиде характеризуется высокой экспрессией эпителиального CD3 и стромального CD20, а также стромального CD3. При вульгарной пузырчатке наблюдается значительная экспрессия стромальных T- и В-лимфоцитов, а также эпителиальных T-лимфоцитов на более низких значениях. Высокая экспрессия T-лимфоцитов отмечается и другими исследователями, поскольку они стимулируют В-клетки к продукции антител [3]. При буллезном пемфигоиде описывается инфильтрат, представленный преимущественно CD4-клетками, предполагаемо аутореактивными T-хелперами [5].

Результаты исследования в перспективе могут быть использованы для разработки патогенетической терапии, направленной на отдельные звенья клеточного и иммунного ответа. В литературе описано применение генно-инженерных препаратов моноклональных антител, таких как ритуксимаб (антитела против CD20) [8] и омализумаб (анти-IgE) [9] при лечении вульгарной пузырчатки и буллезного пемфигоида соответственно. Данные препараты используются наравне с глюкокортикостероидной терапией. Совместное их применение позволит снизить дозы

гормональных препаратов, снизить риск рецидивов и продлить ремиссию, что делает более благоприятным прогноз для данной группы пациентов [10].

Выводы

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.

Список литературы

1. Рутковская, А. С. Клинические и морфологические проявления плоского лишая слизистой оболочки рта / А. С. Рутковская // Современная стоматология. – 2013. – №1. – С. 17–20.
2. Современные методы дифференциальной диагностики истинной (аутоиммунной) пузырчатки и буллезного пемфигоида / С. Б. Ткаченко // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2015. – № 3. – С. 17–22.
3. Булгакова, А. И., Хисматуллина, З. Р., Габидуллина, Г. Ф. Распространенность, этиология и клинические проявления пузырчатки / А. И. Булгакова, З. Р. Хисматуллина, Г. Ф. Габидуллина // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – Т. 11. – № 6. – С. 86–90.
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. T regulatory cells and other lymphocyte subsets in patients with bullous pemphigoid / T. Gambichler [et al.] // *Clinical and Experimental Dermatology*. – 2017. – Vol. 42. – Iss. 6. – P. 632–637.
6. Клинико-иммунологические аспекты развития красного плоского лишая / В. Ю. Уджуху [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2015. – № 1. – С. 18–21.
7. Clinicopathologic Correlation of Oral Lichen Planus and Oral Lichenoid Lesions: A Preliminary Study / M. Mravak-Stipetić [et al.] // The Scientific World Journal. – 2014. – Vol. 2014. – 6 p.
8. 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.
9. Тихоновская, И. В., Катина, М. А. Субэпидермальные буллезные дерматозы. Часть II. Буллезный пемфигоид, пемфигоид слизистых оболочек, приобретенный буллезный эпидермолиз / И. В. Тихоновская, М. А. Катина // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2019. – Т. 18. – № 3. – С. 7–15.
10. Дрождина, М. Б., Кошкин, С. В. Значимость определения уровня сывороточного иммуноглобулина E при пузырьных дерматозах / М. Б. Дрождина, С. В. Кошкин // *Вятский медицинский вестник*. – 2024. – № 1. – С. 14–18.