

## ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛЕНИЯ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ РТА ПРИ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ В, ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ С И ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Азатян В.Ю.

ЕГМУ, Кафедра терапевтической стоматологии

Получена: 11.01.2021, рецензирована: 15.02.2021, принята: 12.04.2021.

**Ключевые слова:** иммуногистохимия, Т- и В-лимфоциты, вирусный гепатит В, вирусный гепатит С, ВИЧ-инфекция.

Слизистая оболочка рта (СОР) – одна из важнейших структур организма, которая осуществляет барьерную функцию в отношении действия патогенных, физических и химических факторов [4]. Эпителий СОР является не только основным барьером на пути проникновения экзогенных патогенных факторов, но и первичным звеном, участвующим в патогенезе заболевания, поэтому его морфологическое исследование является наиболее значимым [1, 2, 3].

Своевременная и эффективная диагностика различных заболеваний СОР по-прежнему остается важной проблемой стоматологии, так как они отличаются большим разнообразием как в плане морфологии, так и клинических проявлений [6, 10].

Несмотря на высокую чувствительность и специфичность клинического осмотра, проводимого стоматологом при тщательном соблюдении протокола, для подтверждения предварительного и установления окончательного диагноза требуется проведение дополнительных диагностических процедур. Данные обстоятельства определяют актуальность рассмотрения спектра наиболее информативных диагностических методик, которыми располагает врач-стоматолог.

В литературе систематизированы данные в виде рекомендаций, в которых отражен вид биопсии, используемый для подтверждения определенного клинического диагноза.

Так, например, при постановке лейкоплакии/эритроплакии проводят инцизионную или пункционную биопсию, при фиброэпителиальном полипе, пиогенной

гранулема, эпулесе – эксцизионную биопсию [5, 7, 8, 9].

Целью исследования явилось изучение иммуногистохимических особенностей воспаления СОР при вирусном гепатите В (ВГВ), вирусном гепатите С (ВГС) и ВИЧ-инфекции.

### Материалы и методы

Материалом для морфологических исследований служили биоптаты из СОР, а также десны (после экстракции зубов по показанию) в зоне непосредственной локализации патогистологического процесса от 20 больных ВГВ, 20 больных ВГС и 20 больных ВИЧ-инфекцией в возрасте 18- 70 лет, поступивших на стационарное лечение в инфекционную клиническую больницу “Норк” и клинический центр “Арменикум” города Еревана за 2017-2018 годы. Контрольную группу составили 30 лиц с заболеваниями пародонта, за исключением больных ВГВ, ВГС и ВИЧ-инфекцией.

Кусочки ткани фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезвоживали и заливали в парафин согласно стандартной гистологической схеме. Из блоков изготавливали серию срезов толщиной 5 мкм. Иммуногистохимическое исследование выполняли реагентами продукции Zytomed- мануальной полимерной системой детекции с выполнением позитивного контроля. Иммуногистохимическое исследование биоптатов СОР проводили с использованием моноклональных мышинных антител к CD 3 (clone SP7 для определения Т-лимфоцитов), CD 20 (clone L26 для определения В-лимфоцитов). Перечисленные иммуногистохимические маркеры были выбраны после проведения контрольных исследований как наиболее информативные показатели, позволяющие оценить функциональную активность Т- и В-лимфоцитов, а также с высокой прогностической значимостью судить о характере воспаления СОР.

В качестве вторых антител использовали универсальный набор, содержащий антимышинные и антикроличьи иммуноглобулины. Визуализацию окрасок

### \* АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ

В.Ю. Азатян

ЕГМУ, Кафедра терапевтической стоматологии

Адрес: РА, Ереван, 0025, ул. Корюна 2

Эл. почта: vahe.azatyan@gmail.com

Тел.: (+374) 91 32 67 73

Таблица 1

Реакция на CD 20 при ВГВ, ВГС, ВИЧ-инфекции

Нозология	Позитивная реакция в лимфоцитах на CD 20 (Zytomed, clone 26)		Негативная реакция в лимфоцитах на CD 20 (Zytomed, clone 26)		Всего
	Абс. ед.	%	Абс. ед.	%	
ВГВ	13	87%	2	13%	15(100%)
ВГС	12	80%	3	20%	15(100%)
ВИЧ-инфекция	12	80%	3	20%	15(100%)
<b>Всего</b>	<b>37</b>	<b>82%</b>	<b>8</b>	<b>18%</b>	<b>45(100%)</b>
ВГВ	-	35%	-	25%	
ВГС	-	32%	-	38%	
ВИЧ-инфекция	-	32%	-	38%	

проводили с последующим проявлением пероксидазы хрена диаминобензидином. Для проведения иммуногистохимической реакции использовали стандартный одноэтапный протокол с демаскировкой антигена в цитратном буфере (рН 7).

Количественную оценку результатов иммуногистохимических реакций проводили с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений. С каждого препарата делали по три микрофотографии, на которых производили оценку содержания CD 3, CD 20.

Статистический анализ полученных результатов был основан на дескриптивном анализе, включающем показатели процентных распределений (%) в группах категориальных данных. Статистически достоверная разница между группами больных была рассчитана методом  $\chi^2$  для категориальных данных и методом t-критерия Стьюдента при сравнении каждой отдельной группы с контрольной группой. Для статистического анализа были использованы пакеты статистических программ Excel 2013 и R.

### Результаты и их обсуждение

Результаты проведенных иммуногистохимических исследований показывают, что поражение СОР при ВГВ, ВГС и ВИЧ-инфекции происходит при участии клеточного и гуморального звеньев иммунитета и сопровождается определенными иммунными нарушениями.

Патоморфологические изменения в СОР при ВГВ и ВГС характеризуются практически однотипными изменениями: в стадии обострения в воспалительном инфильтрате СОР при ВГВ (n=20) у 100% больных, а при

ВГС (n=18) у 30% больных обнаруживаются плазмоциты с примесью нейтрофилов, дистрофические изменения клеток плоского эпителия, акантоз, паракератоз и утолщение плоского эпителия; расстройства кровообращения в виде отека, кровоизлияний, стаза в капиллярах, ангиоматоза; фибриновые наложения на поверхности изъязвлений и эрозий; а в стадии ремиссии – фиброз СОР; облитерация просвета сосудов; секвестрация кости. Однако, если при ВГВ и ВГС изменения в СОР характеризовались диффузной лимфоплазмотитарной инфильтрацией, то при ВИЧ-инфекции в воспалительном инфильтрате плазмоциты практически отсутствовали (наблюдались лишь в 3,33% случаев – у 2 больных), что свидетельствует об истощении гуморального иммунитета. При ВИЧ-инфекции в воспалительном инфильтрате обнаруживались, преимущественно, нейтрофилы и скудное количество Т-лимфоцитов.

Это свидетельствует не только о снижении иммунных противоинфекционных реакций, но и об их разобщенности.

У некоторых больных обнаруживались фрагменты некротизированной костной ткани, видимо, вследствие секвестрации челюстной кости.

При ВИЧ-инфекции наблюдались более выраженные кровоизлияния, что, по-всей вероятности, связано с дефицитом факторов свертывания крови.

Имуногистохимическое исследование позволило нам оценить качественный состав инфильтрата, используя моноклональные антитела CD 20 к В-лимфоцитам (таб. 1, рис. 1) и CD 3 к Т-лимфоцитам (таб. 2, рис. 2).

Таблица 1

Реакция на CD 3 при ВГВ, ВГС, ВИЧ-инфекции

Нозология	Позитивная реакция в лимфоцитах на CD 3 (Zytomed, clone SP 7)		Негативная реакция в лимфоцитах на CD 3 (Zytomed, clone SP 7)		Всего
	Абс. ед.	%	Абс. ед.	%	
ВГВ	14	93%	1	7%	15(100%)
ВГС	15	100%	0	0%	15(100%)
ВИЧ-инфекция	13	87%	2	13%	15(100%)
<b>Всего</b>	<b>42</b>	<b>93%</b>	<b>3</b>	<b>20%</b>	<b>45(100%)</b>
ВГВ	-	33%	-	33%	
ВГС	-	36%	-	0%	
ВИЧ-инфекция	-	31%	-	67%	

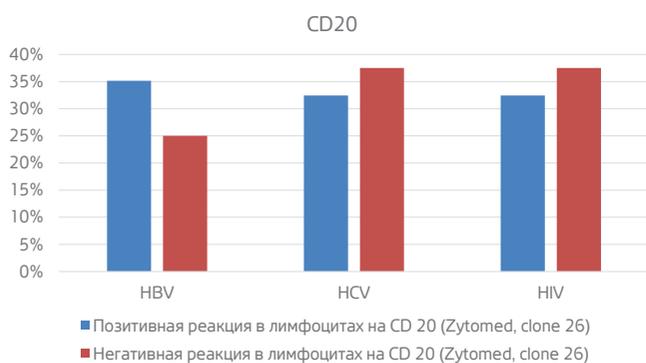


Рис. 1 Реакция на CD 20 при ВГВ, ВГС, ВИЧ-инфекции

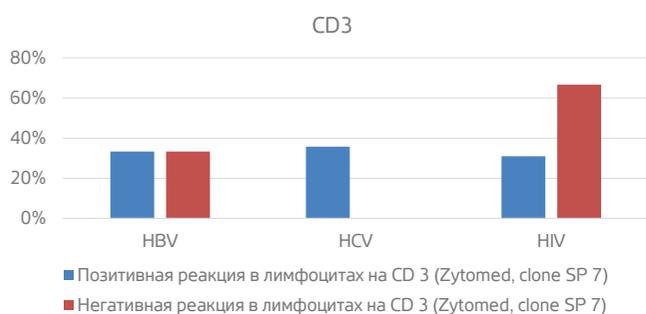


Рис. 2 Реакция на CD 3 при ВГВ, ВГС, ВИЧ-инфекции

Рассеянные лимфоциты в собственной пластинке слизистой оболочки полости рта представлены в основном Т-клетками, хотя Т-лимфоциты были локализованы также в толще эпителиального пласта.

В-лимфоциты были рассеяны диффузно. Плазмочиты также были рассеяны в инфильтрате, в основном располагаясь в поверхностном отделе слизистой оболочки, под эпителием. Диффузная выраженная позитивная экспрессия к В-лимфоцитам (CD 20) наблюдалась при вирусных гепатитах В и С на фоне интенсивного лечения, что, по-видимому способствовало

повышению гуморального иммунитета. У остальных же больных выявлялись единичные рассеянные CD 20-позитивные лимфоциты при гепатитах В и С, что свидетельствует о местном, слабовыраженном гуморальном иммунном ответе.

Экспрессия CD 20 и CD 3 в слизистой оболочке полости рта при ВГВ, ВГС и ВИЧ-инфекции отрицательная. Это подтверждается результатами наших исследований, свидетельствующих о практическом истощении гуморального иммунитета при ВИЧ-инфекции (рис. 3, 4).

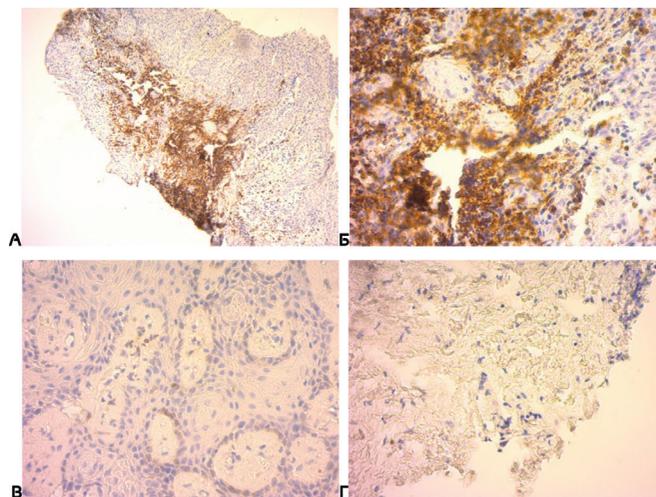


Рис. 3 А и Б – Диффузная выраженная позитивная реакция на CD 20 в клетках воспалительного инфильтрата при ВГВ и ВГС на фоне интенсивного лечения. В- Фокальная позитивная реакция на CD 20 в клетках воспалительного инфильтрата при ВГВ и ВГС в стадии декомпенсации у истощенных больных. Г – Негативная реакция на CD 20 в клетках воспалительного инфильтрата при ВИЧ-инфекции. (А, Г –  $\times 100$ ; Б, В –  $\times 400$ )

