

О.Ф. Рабинович,
д.м.н., зав. отделением заболеваний
слизистой оболочки рта

И.М. Рабинович,
д.м.н., профессор, зав. отделом
терапевтической стоматологии

Е.С. Абрамова,
к.м.н., старший научный сотрудник
отделения заболеваний слизистой
оболочки рта

К.В. Умарова,
к.м.н., научный сотрудник отделения
заболеваний слизистой оболочки рта

ЦНИИСиЧЛХ

Особенности иммунного статуса у пациентов с буллезными поражениями слизистой оболочки рта при комплексном лечении с применением фотодинамической терапии

Резюме. Изучены показатели врожденного иммунитета в ротовой жидкости 75 пациентов с буллезными поражениями слизистой оболочки рта — истинной пузырчаткой (18), доброкачественной пузырчаткой (25) и буллезной формой красного плоского лишая (32) — до и после проведения комплексного лечения с включением фотодинамической терапии. Были определены показатели уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α и иммуноглобулинов А, М, G. Контролем служили 10 человек, которые обратились по поводу лечения кариеса и его осложнений; соматической патологии и признаков, указывающих на наличие аутоиммунных заболеваний слизистой оболочки рта, у них не выявлено. Настоящее исследование установило взаимосвязь концентрации провоспалительных цитокинов и иммуноглобулинов с тяжестью клинического течения буллезных поражений, что обуславливает применение фотодинамической терапии в комплексном лечении данных заболеваний слизистой оболочки рта.

Ключевые слова: пемфигус, буллезный пемфигоид, красный плоский лишай, интерлейкины, иммуноглобулины, ротовая жидкость, фотодинамическая терапия

Ротовая жидкость представляет собой смесь секретов трех пар слюнных желез (околоушной, подъязычной и поднижнечелюстной), десневой жидкости, продуктов слизистой оболочки рта, компонентов сыворотки крови [5, 10]. Играя важную роль в анализе мукозального иммунитета полости рта, исследования ротовой жидкости оказались информативными в диагностике, оценке течения и эффективности лечения аутоиммунных заболеваний, проявлявшихся во рту [4, 11].

Состав ротовой жидкости многообразен: это иммуноглобулины (IgA, IgM, IgG), лактоферрин, каталепцидин, лизоцим, компоненты комплемента, цитокины и т.д. [6, 9].

Плоский эпителий, выстилающий слизистую оболочку рта (СОР), действует как «молекулярное сито», способствующее проникновению IgA, IgM и IgG. В норме этот путь ограничен. Несекреторные иммуноглобулины

Summary. In this article the indicators of innate immunity in oral fluid were studied in 75 patients with bullous lesions of the oral mucosa (pemphigus vulgaris (18), *pemphigoid bullosa* (25) and bullous form of lichen ruber planus (32)) before and after complex treatment with the inclusion of photodynamic therapy. Indicators of the level of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF- α and immunoglobulins A, M, G were determined. 10 people who turned to a dentist for the treatment of caries and its complications served as control; somatic pathology and signs indicating the presence of autoimmune diseases of the oral mucosa, they were not revealed. This study established the relationship between the level of proinflammatory cytokines and immunoglobulins with the severity of the clinical course of bullous lesions, which causes the use of photodynamic therapy in the complex treatment of these diseases of the oral mucosa.

Key words: pemphigus vulgaris, pemphigoid bullosa, lichen ruber planus, interleukins, immunoglobulins, oral fluid, photodynamic therapy

попадают в полость рта с током крови при нарушении целостности слизистой оболочки, так, например, при эрозивно-язвенных формах красного плоского лишая (КПЛ), буллезных поражениях, когда происходит массивная трансудация иммуноглобулинов данного класса из крови [1, 3]. Также в ротовой жидкости существует молекулярная фракция IgA (15% от всех IgA), которая выделяется из сыворотки крови локальными плазматическими клетками, такими как IgG, и появляется в полости рта в составе слизистой трансудата путем ацинарной ультрафильтрации [2].

В полости рта цитокины продуцируются лимфоцитами и макрофагами, встроенными в эпителий слизистой оболочки [13]. Цитокины являются полипептидами или белками, часто гликозилированными, с молекулярной массой от 5 до 50 кДа. Для сравнения молекулярная масса IgG составляет 160 кДа. Цитокины не имеют

антигенной специфичности биологического действия. Они влияют на функциональную активность клеток, принимающих участие в реакциях врожденного и приобретенного иммунитета [7, 15].

Источниками цитокинов в ротовой жидкости являются сывороточный транссудат и слюнные железы, а также они могут вырабатываться эпителиальными клетками СОР при различных воспалительных процессах [8, 12]. Цитокины активны в очень малых концентрациях. Их биологические эффекты на клетки реализуются через взаимодействие со специфическими рецепторами, локализованными на цитоплазматических мембранах [14].

Все вышесказанное говорит о том, что изучение уровня провоспалительных цитокинов и иммуноглобулинов позволяет клиницистам прогнозировать в дальнейшем развитие и течение аутоиммунного процесса СОР, а также определить специфику и объем индивидуального лечения.

Цель исследования: изучение уровня провоспалительных цитокинов и иммуноглобулинов у пациентов с буллезными поражениями слизистой оболочки рта при комплексном лечении с применением фотодинамической терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В отделении заболеваний слизистой оболочки рта ЦНИИСиЧЛХ изучали показатели врожденного иммунитета в ротовой жидкости при буллезных поражениях СОР до и после лечения у 75 пациентов, 50 женщин и 25 мужчин, в возрасте от 30 до 70 лет. Из них с буллезной формой КПЛ — 32 человека, буллезным пемфигоидом — 25, истинной пузырчаткой — 18 человек. Длительность заболеваний составила от 1 года до 6 лет. Были определены показатели уровня провоспалительных цитокинов — ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α , а также показатели концентрации иммуноглобулинов А, М, G.

Количественное определение интерлейкинов ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6 и ФНО- α в ротовой жидкости у пациентов с буллезными поражениями СОР проводили иммуноферментным твердофазным методом с помощью коммерческой тест-системы («Вектор-Бест», Россия). Метод основан на ферментной визуализации иммунологической реакции «антиген — антитело».

Определение основных классов иммуноглобулинов в ротовой жидкости — IgA, IgM и IgG — проводили иммуноферментным твердофазным методом с помощью коммерческой тест-системы иммуноскрин, поставляемой фирмой-изготовителем «Вектор-Бест» (Россия). Оптическую плотность измеряли с помощью спектрофотометра с фильтром 450 нм. Количество иммуноглобулинов рассчитывали по калибровочному графику и выражали в мг/мл.

Фотодинамическую терапию мы применяли в условиях стационара под контролем лечащего врача и врача-анестезиолога методом интракапельного введения фотодитазина в дозе 1 мг/кг массы тела пациента.

Рассчитанную дозу растворяли в 200 мл физиологического раствора и вводили интракапельно в течение 30 минут в затемненном помещении. Через 1,5–2 часа после введения фотосенсибилизатора фотодитазина лечащий врач проводил сеанс лазерного облучения элементов поражения СОР аппаратом Латус 0.4 (ООО «Аткус») с длиной волны 662–668 нм. Мощность и время определялись в зависимости от размеров очагов поражения СОР и рассчитывались по специальной таблице.

Статистическую обработку полученных данных проводили с определением средней арифметической (M) и среднего квадратического отклонения (σ). Учитывая ненормальное распределение отдельных статистических показателей, сравнение трех независимых групп осуществляли непараметрическим методом при помощи U-критерия Манна — Уитни. Достоверными считали различия средних при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После проведенного комплексного лечения с включением фотодинамической терапии у пациентов с *pemphigus vulgaris* СОР в ротовой жидкости достоверно значимо упало количество ИЛ-1 β , а также ИЛ-6. Характерной особенностью, в отличие от буллезной формы КПЛ, является то, что снижение количества ИЛ-1 β было более выражено (рис. 1).

По результатам исследования у пациентов с *pemphigus vulgaris* СОР после лечения отмечалось снижение провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости (особенно ИЛ-2), при этом нарастал уровень ФНО- α и IgM (рис. 2). Также по сравнению с нормой количество IgM и IgG оставалось увеличенным ($p < 0,05$).

Таким образом, комплексное лечение пациентов с *pemphigus vulgaris* с включением фотодинамической терапии способствует уменьшению острой воспалительной реакции и переходу тканей СОР на новый уровень защитных реакций.

Исследование ротовой жидкости после проведенного лечения у пациентов с *pemphigoid bullosa* СОР выявило следующие особенности при данной форме патологии: количество ИЛ-1 β после лечения было приближено к норме, а содержание ИЛ-6 снижено в 3 раза. Проводимое лечение обеспечивало снижение в ротовой жидкости ИЛ-2, значение которого оставалось выше контрольных цифр (рис. 3).

Выявленный большой разброс в количестве ФНО- α в ротовой жидкости пациентов с *pemphigoid bullosa* СОР сохранялся и после проведенного лечения.

После проведенного комплексного лечения у пациентов с *pemphigoid bullosa* СОР количество IgG в ротовой жидкости приближалось к норме. То есть, лечение с применением фотодинамической терапии нормализовало защитные процессы в СОР, но, однако, изменения сохранялись в отношении IgA (рис. 4). Возможно, это связано с аутоиммунными процессами при данной форме заболевания СОР.

Если в ротовой жидкости пациентов с буллезной формой КПЛ до лечения выявлялось достоверное ($p < 0,05$) увеличение содержания ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6 и ФНО- α по сравнению с таковыми показателями у здоровых лиц, то после проведенного комплексного лечения пациентов с данной патологией уровни

провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости снижались (рис. 5).

Так, количество ИЛ-2 и ИЛ-6 в ротовой жидкости пациентов с буллезной формой КПЛ достоверно ($p < 0,05$) снижалось от исходного, и их уровни приближались к значениям в контрольной группе. Также

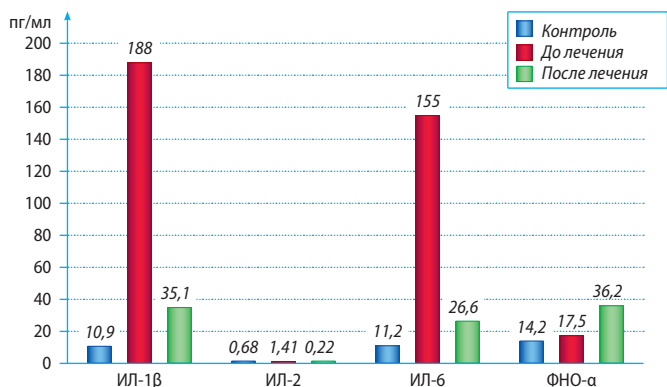


Рис. 1. Количество провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости у пациентов с *retrophigus vulgaris COP* до и после комплексного лечения

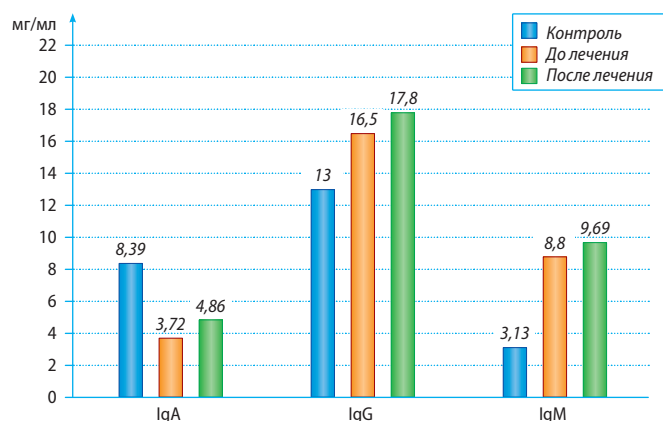


Рис. 2. Содержание иммуноглобулинов в ротовой жидкости у пациентов с *retrophigus vulgaris COP* до и после комплексного лечения

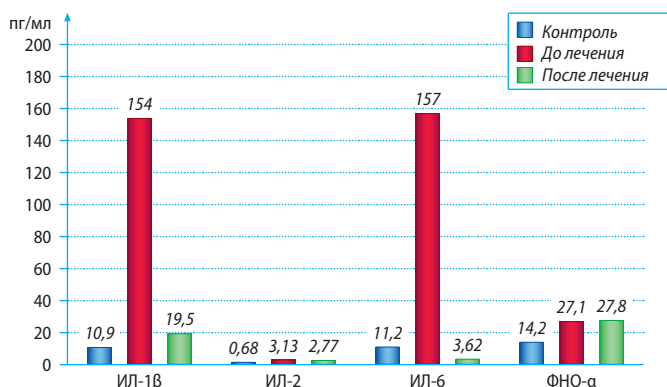


Рис. 3. Количество провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости у пациентов с *retrophigoid bullosa* до и после комплексного лечения

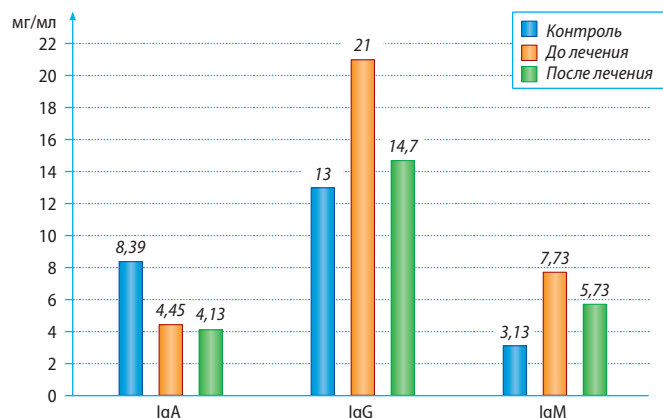


Рис. 4. Содержание иммуноглобулинов в ротовой жидкости у пациентов с *retrophigoid bullosa* до и после комплексного лечения

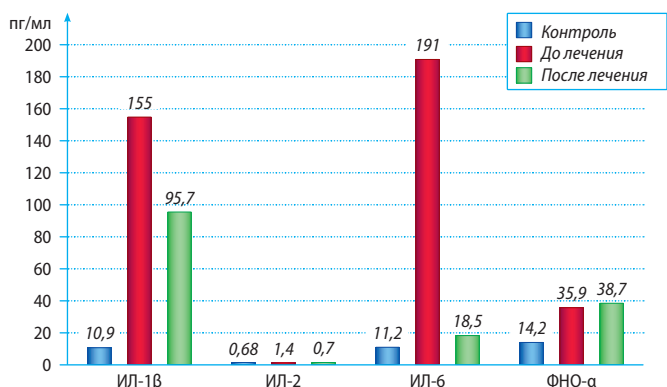


Рис. 5. Количество провоспалительных цитокинов в ротовой жидкости пациентов с буллезной формой КПЛ до и после комплексного лечения

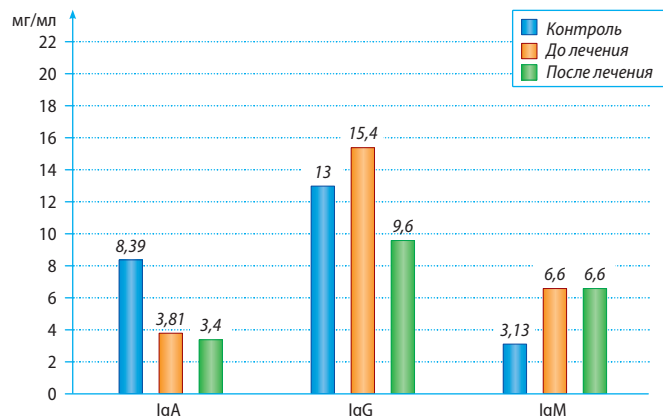


Рис. 6. Содержание иммуноглобулинов в ротовой жидкости у пациентов с буллезной формой КПЛ до и после комплексного лечения

после комплексного лечения с включением фотодинамической терапии наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) снижение количества ИЛ-1 β , но цифры не достигали контрольных значений. Все эти изменения в количестве провоспалительных цитокинов после проведенного лечения происходили при отсутствии сдвигов в содержании ФНО- α и IgM (рис. 6), при этом выявлялось падение уровня IgG. Полученные данные свидетельствуют в пользу сохраняющегося острого воспаления у пациентов с буллезной формой КПЛ СОР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в результате исследования данные изменения уровня провоспалительных цитокинов и иммуноглобулинов в ротовой жидкости свидетельствуют о тяжести воспалительного процесса СОР. Установленная в ходе исследований взаимосвязь уровня провоспалительных цитокинов и иммуноглобулинов с тяжестью клинического течения позволяет обосновать включение в комплексную терапию метода фотодинамической терапии для пациентов с буллезными поражениями СОР.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Глазкова Ю.П., Терещенко А.В., Корсунская И.М.

Роль отклонений в цитокиновом статусе при красном плоском лишае слизистой оболочки полости рта и красной каймы губ. — *Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии*. — 2010; 6: 38—41.

2. Матушевская Е.В., Лысенко А.А., Свирищевская Е.В.

Клинические особенности и иммунные механизмы патогенеза истинной пузырчатки. — *Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии*. — 2008; 1: 18—26.

3. Махнева Н.В., Молочков В.А., Белецкая Л.В. Циркулирующие аутоантитела и оценка их роли в развитии аутоиммунной пузырчатки паранеопластического генеза. — *Вестн. дерматол. венерол.* — 2009; 2: 47—53.

4. Оскольский Г.И., Загородняя Е.Б., Лебедько О.А. и др. Состояние местного цитокинового статуса и его патогенетическое значение при красном плоском лишае слизистой оболочки полости рта. — *Дальневост. мед. журнал*. — 2010; 4: 86—9.

5. Рабинович О.Ф., Рабинович И.М., Абрамова Е.С.

Проявления дисбактериоза и кандидоза при различных заболеваниях слизистой оболочки рта. — *Клиническая стоматология*. — 2011; 3 (59): 48—51.

6. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. — *Российский физиологический журнал*. — 2000; 3: 252—67.

7. Arenas-Ramirez N., Woytschak J., Boyman O. Interleukin-2: Biology, Design and Application. — *Trends Immunol.* — 2015; 36 (12): 763—777.

8. Bai J., Jiang L., Lin M., Zeng X., Wang Z., Chen Q. Association of polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha

and interleukin-10 genes with oral lichen planus: a study in a chinese cohort with Han ethnicity. — *J Interferon Cytokine Res.* — 2009; 29 (7): 381—8.

9. Gu G.M., Martin M.D., Darveau R.P., Truelove E., Epstein J. Oral and serum IL-6 levels in oral lichen planus patients. — *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* — 2004; 98 (6): 673—8.

10. Juretić M., Cerović R., Belušić-Gobić M., Brekalo Pršo I., Kqiku L., Špalj S., Pezelj-Ribarić S. Salivary levels of TNF- α and IL-6 in patients with oral premalignant and malignant lesions. — *Folia Biol (Praha)*. — 2013; 59 (2): 99—102.

11. Malek T.R., Castro I. Interleukin-2 receptor signaling: at the interface between tolerance and immunity. — *Immunity*. — 2010; 33 (2): 153—65.

12. Pezelj-Ribaric S., Prso I.B., Abram M., Glazar I., Brumini G., Simunovic-Soskic M. Salivary levels of tumor necrosis factor-alpha in oral lichen planus. — *Mediators Inflamm.* — 2004; 13 (2): 131—3.

13. Rhodus N.L., Cheng B., Bowles W., Myers S., Miller L., Ondrey F. Proinflammatory cytokine levels in saliva before and after treatment of (erosive) oral lichen planus with dexamethasone. — *Oral Dis.* — 2006; 12 (2): 112—6.

14. Rhodus N.L., Ho V., Miller C.S., Myers S., Ondrey F. NF-kappaB dependent cytokine levels in saliva of patients with oral preneoplastic lesions and oral squamous cell carcinoma. — *Cancer Detect Prev.* — 2005; 29 (1): 42—5.

15. Zhang Y., Lin M., Zhang S., Wang Z., Jiang L., Shen J., Bai J., Gao F., Zhou M., Chen Q. NF-kappaB-dependent cytokines in saliva and serum from patients with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese population. — *Cytokine*. — 2008; 41 (2): 144—9.