



doi: 10.25005/2074-0581-2024-26-4-596-607

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК В РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ В ДИНАМИКЕ ТЕРАПИИ ТЯЖЁЛОЙ ФОРМЫ КРАСНОГО ПЛОСКОГО ЛИШАЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА

А.Н. ЗОЛОТОВ^{1,2}, Л.Ю. ЗОЛОТОВА³, И.В. АНИСИМОВА³, Д.Г. НОВИКОВ^{1,4}, Л.М. ЛОМИАШВИЛИ³, Л.А. СИМОНЯН³

¹ Центральная научно-исследовательская лаборатория, Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

² Кафедра патофизиологии, Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

³ Кафедра терапевтической стоматологии, Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

⁴ Кафедра клинической лабораторной диагностики ДПО, Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

Цель: оценить динамику содержания нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) и клеточных элементов в ротовой жидкости (РЖ) у пациентов с эрозивно-язвенной формой красного плоского лишая (КПЛ) слизистой оболочки рта (СОР) в процессе лечения.

Материал и методы: были сформированы 2 группы: контрольная группа (n=12) и группа пациентов с КПЛ (n=12), в которой все исследования проводились до лечения – исследовательская точка «КПЛ до лечения» и сразу после лечения – точка «КПЛ после лечения». Капля ротовой жидкости (РЖ) окрашивалась пропидиям йодидом и FITC-антителами к CD45. Методом люминесцентной микроскопии в препарате определялись процентное отношение НВЛ в виде «облака» и «нитей», клетки раннего нетоза, лейкоциты, одиночные эпителиоциты и пласты эпителиоцитов у здоровых волонтеров (контрольная группа) и у пациентов с КПЛ до и после лечения.

Результаты: у всех пациентов с КПЛ в процессе лечения была достигнута стадия ремиссии, которая характеризовалась субъективно исчезновением боли и объективно – эпителизацией эрозий, улучшением гигиены полости рта, снижением показателей индекса кровоточивости и воспаления. Нейтрофилы РЖ всех исследуемых групп чаще всего формировали нитевидные НВЛ. У пациентов в группе «КПЛ до лечения» нитевидных ловушек (17,1% [13,1; 25,5]) было статистически значимо выше ($p < 0,001$) относительно их доли в препарате контрольной группы (2,2% [1,2; 3,1]). После лечения доля нитевидных НВЛ в РЖ у пациентов с КПЛ статистически значимо ($p = 0,005$) снизилась, но не достигла значений контрольной группы. Облаковидные НВЛ в препарате РЖ в норме не обнаруживались, однако при КПЛ, нейтрофилы активно формировали облаковидные НВЛ.

Заключение: повышение содержания НВЛ и клеток раннего нетоза в РЖ у пациентов с КПЛ может стать одним из объективных и чувствительных маркеров в оценке завершенности воспалительного процесса и стойкости ремиссии. Кроме того, избыточно образующиеся при КПЛ нейтрофильные ловушки, могут стать одним из повреждающих факторов СОР, а значит, НВЛ могут являться потенциальной терапевтической целью для достижения хорошего результата в лечении.

Ключевые слова: красный плоский лишай, слизистая оболочка рта, нейтрофильные внеклеточные ловушки, нетоз, ротовая жидкость.

Для цитирования: Золотов АН, Золотова ЛЮ, Анисимова ИВ, Новиков ДГ, Ломиашвили ЛМ, Симонян ЛА. Характеристика нейтрофильных внеклеточных ловушек в ротовой жидкости в динамике терапии тяжёлой формы красного плоского лишая слизистой оболочки рта. *Вестник Авиценны*. 2024;26(4):596-607. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2024-26-4-596-607>

NETS BIOMARKERS IN SALIVA AS A POTENTIAL PROGNOSTIC AND THERAPEUTIC TARGET IN PATIENTS WITH ORAL LICHEN PLANUS

A.N. ZOLOTOV^{1,2}, L.YU. ZOLOTOVA³, I.V. ANISIMOVA³, D.G. NOVIKOV^{1,4}, L.M. LOMIASHVILI³, L.A. SIMONYAN³

¹ Central Research Laboratory, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

² Department of Pathophysiology, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

³ Department of Therapeutic Dentistry, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

⁴ Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

Objective: To assess changes in the levels of neutrophil extracellular traps (NETs) and cellular elements in saliva among patients undergoing treatment for erosive and ulcerative oral lichen planus (LP).

Methods: Two groups were established for the study: a control group consisting of 12 participants and a group of 12 patients with oral LP. The research involved analyzing saliva samples before treatment (referred to as "LP before treatment") and immediately after treatment (referred to as "LP after treatment"). The saliva samples were stained with propidium iodide and FITC antibodies to CD45 and examined using fluorescence microscopy. The analysis focused on determining the percentage of various cell types, including NETs in the form of "cloud" and "threads," early NETosis cells, leukocytes, single epithelial cells, and clusters of epithelial cells in healthy volunteers (control group), and in patients with LP before and after treatment.

Results: All patients diagnosed with LP experienced a significant improvement during the treatment period. This improvement was subjectively characterized by a reduction in pain and objectively by the healing of oral sores, improved oral hygiene, bleeding, and inflammation indices. It was observed that saliva neutrophils in all study groups predominantly formed filiform NETs. Notably, patients in the "LP before treatment" group had a statistically significantly higher percentage ($p < 0.001$) of filiform NETs (17.1% [13.1; 25.5]) compared to the control group (2.2% [1.2; 3.1]), indicating a distinct difference in neutrophil behavior. After treatment, the proportion of filiform NETs in the saliva of patients with LP statistically significantly

decreased ($p=0.005$) but did not reach the values of the control group. Cloud-shaped NETs were not detected in the saliva preparation under normal conditions; however, in LP, neutrophils actively formed cloud-shaped NETs.

Conclusion: Elevated levels of NETs and early NET cells in the saliva of patients with LP could serve as valuable and sensitive indicators for evaluating the resolution of the inflammatory process and the maintenance of remission. On the other hand, the excessive formation of NETs during LP may contribute to damage to the oral mucosa, suggesting that targeting NETs could be a promising approach for improving treatment outcomes.

Keywords: *Lichen planus, oral mucosa, neutrophil extracellular traps, NETosis, saliva.*

For citation: Zolotov AN, Zolotova LY, Anisimova IV, Novikov DG, Lomiashvili LM, Simonyan LA. Kharakteristika neytrofil'nykh vnekletochnykh lovushek v rotovoy zhidkosti v dinamike terapii tyazholoy formy krasnogo ploskogo lishaya slizistoy obolochki rta [NETs biomarkers in saliva as a potential prognostic and therapeutic target in patients with oral lichen planus]. *Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin]*. 2024;26(4):596-607. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2024-26-4-596-607>

ВВЕДЕНИЕ

КПЛ – распространённый кожный дерматоз с элементами поражения СОР. Общая распространённость КПЛ в мире достигает 1,01% с заметными географическими различиями ($p<0,001$), причём наибольшая распространённость зарегистрирована в Европе (1,43%), а наименьшая – в Индии (0,49%). В этом же исследовании указывается, что стоматологами диагностируется 1,8% случаев, а врачами других специальностей (дерматологи, зубные врачи, врачи общей практики) – от 0,33% до 0,61% случаев КПЛ [1]. В настоящее время в 5-10% случаев диагноз «КПЛ» с локализацией на слизистой рта устанавливается в детском возрасте [2]. Отмечается увеличение доли КПЛ среди дерматозов примерно в два раза [3]. КПЛ – это хроническое заболевание, поражающее кожу, придатки и слизистые оболочки [4], «характеризующееся упорным течением, наличием тяжело протекающих клинических форм и возможностью опухолевой трансформации» [3, 5]. КПЛ является мультифакториальным заболеванием, для которого характерны коморбидные состояния [6]. Одним из главных звеньев в патогенезе КПЛ является аутоиммунный компонент, способствующий формированию КПЛ-ассоциированных заболеваний, например, пародонтита [7, 8]. Иммунная теория патогенеза КПЛ на настоящий момент является одной из основных [3, 9]. Многие авторы указывают на нарушения клеточного и гуморального иммунитета при КПЛ [10-12]. Основными лимфоцитами, участвующими в хроническом воспалительном процессе при КПЛ, считаются цитотоксические CD8+, Т-хелперы первого типа (Th1), Th9, Th17 и Treg [13]. В регуляции Т-клеточного ответа центральное значение занимают антигенпрезентирующие дендритные клетки [4].

Важную роль в патогенезе КПЛ играют нейтрофилы [14]. Нейтрофилы, являясь фактически первой линией защиты, уничтожают патогены посредством фагоцитоза, через продукцию активных форм кислорода и дегрануляцию, в процессе которой происходит продукция и высвобождение бактерицидных веществ [15, 16]. Одной из недавно описанных защитных функций нейтрофила является его способность формировать НВЛ [17], которая захватывает патоген, а локализованные на нитях ДНК агрессивные ферменты (нейтрофильная эластаза, миелопероксидаза) способны уничтожить попавший в ловушку объект [18]. Нейтрофилы, мигрирующие в ткани, контактирующие с полостью рта, формируют НВЛ в норме, и эта функция является защитной стратегией гранулоцитов, находящихся в данной локации [19]. Однако при патологии может происходить избыточное формирование НВЛ, что способствует повреждению собственных тканей, например, тканей СОР [20].

Таким образом, можно предположить, что сформированные нейтрофилами в процессе неспецифического иммунного ответа

INTRODUCTION

Lichen planus (LP) is a frequently occurring skin condition that also affects oral mucosa. Its prevalence is approximately 1.01% worldwide, with notable variations across different geographical regions ($p<0.001$). The highest prevalence is found in Europe at 1.43%, while the lowest is in India at 0.49%. According to the study, dentists diagnose 1.8% of cases of LP. In comparison, doctors in other specialties, such as dermatologists and general practitioners, diagnose anywhere from 0.33% to 0.61% of cases [1]. Interestingly, the diagnosis of "LP" is established in childhood in 5-10% of cases [2]. The prevalence of LP among cutaneous conditions has increased approximately two-fold, as indicated by recent studies [3]. LP is a persistent and chronic condition affecting skin, hair, and mucous membranes [4]. It is characterized by its persistent nature, severe clinical manifestations, and the potential for tumor development [3, 5]. LP is a complex condition with multiple contributing factors, including comorbidities [6]. An essential aspect of LP's development is its autoimmune component, which can lead to associated conditions such as periodontitis [7, 8]. The immune theory is currently considered one of the primary explanations for LP's pathogenesis [3, 9]. Many researchers have highlighted cellular and humoral immunity disruptions in LP [10-12]. The chronic inflammatory process in LP involves various lymphocytes, including cytotoxic CD8+ cells, T-helpers (Th1), Th9, Th17, and Treg cells [13]. Additionally, dendritic cells responsible for presenting antigens play a crucial role in regulating the T-cell response [4].

Neutrophils are crucial in the development of LP [14]. As the body's first line of defense, neutrophils combat pathogens through phagocytosis, producing reactive oxygen species and degranulation, releasing bactericidal substances [15, 16]. A newly discovered protective function of neutrophils is their ability to form NETs [17], which ensnare and kill microbes. Enzymes localized on DNA strands within NETs, such as neutrophil elastase and myeloperoxidase, can effectively neutralize the trapped pathogens [18]. Neutrophils that migrate to tissues in contact with the oral cavity naturally form NETs, serving as a protective strategy for granulocytes in this location [19]. However, excessive NET formation can damage the body's tissues, such as the oral mucosa [20].

It is plausible that NETs formed by neutrophils in the non-specific immune response in saliva could be utilized to evaluate the severity of LP, analyze the effectiveness of treatment over time, and determine the stability of remission. However, there is currently no available literature on the study of NETs in the saliva of LP patients. Therefore, we believe that investigating the pres-

НВЛ в ротовой жидкости, могут быть использованы, во-первых, для оценки степени тяжести КПЛ, во-вторых, для анализа эффективности проводимого терапевтического воздействия в динамике и, в-третьих, для определения стойкости ремиссии. Однако, данных об исследовании НВЛ в ротовой жидкости у пациентов с КПЛ, в доступной литературе нет. В этой связи, изучение содержания НВЛ в ротовой жидкости у пациентов с эрозивно-язвенной формой КПЛ при обращении к врачу-стоматологу, а также в динамике лечения КПЛ, на наш взгляд, представляет научный интерес.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить динамику содержания НВЛ и клеточных элементов в ротовой жидкости у пациентов с эрозивно-язвенной формой КПЛ слизистой оболочки рта в процессе лечения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На клинической базе Омского государственного медицинского университета (Городская клиническая стоматологическая поликлиника № 1) и при участии Центральной научно-исследовательской лаборатории проведено клиническое, лабораторное, сравнительное, проспективное исследование. В группе пациентов с эрозивно-язвенной формой КПЛ (n=12) все исследования проводились до лечения – исследовательская точка «КПЛ до лечения» и сразу после лечения – исследовательская точка «КПЛ после лечения». Медиана возраста пациентов с установленным диагнозом КПЛ эрозивно-язвенная форма (по А.Л. Машкиллею, 1984 г.) составила 65,5 лет [57,5; 70,3]. Контрольную группу составили 12 добровольцев без КПЛ, сопоставимых по полу и возрасту (63 [47,3; 66,8]) с группой пациентов с диагнозом КПЛ (p>0,05). Все пациенты были информированы и дали добровольное согласие на обследование и лечение. Проводилось комплексное клиническое обследование с целью выявления соматической патологии. Оценивался стоматологический статус, определялись индексы гигиены (ОИ-С), воспаления десны (РМА), кровоточивости при зондировании десневой борозды (РБИ по Saxer, Mühlemann, 1975). Фиксировалась локализация, протяжённость морфологических элементов на слизистой рта. Результаты оценивались до лечения и после.

Общая терапия КПЛ проводилась согласно Федеральным клиническим рекомендациям совместно со смежными специалистами (дерматолог, гастроэнтеролог, эндокринолог, психоневролог, кардиолог). Местная терапия включала устранение механической травмы, влияния электро-гальванического действия ортопедических конструкций. Антисептическая обработка повреждённой слизистой осуществлялась препаратами хлоргексидина биглюконата 0,2% в виде геля до 10 дней, при необходимости применялись обезболивающие препараты. При обнаружении грибов *Candida* spp. в соскобе с элементов поражения (эрозий) назначались противогрибковые препараты. Местное лечение дополнялось репарантами. Все пациенты проходили лечение у врача пародонтолога. Мотивировали пациентов к отказу от вредных привычек (курение, алкоголь), соблюдению диеты.

С целью оценки динамики содержания клеточных элементов и НВЛ в РЖ осуществлялся её сбор у здоровых добровольцев и у пациентов с КПЛ до и после лечения. За 30 мин до сбора РЖ пациент прополаскивал рот 100 мл физиологического раствора NaCl. РЖ собиралась в пластиковую пробирку типа «Эппендорф» в количестве 1-2 мл. Использовался оригинальный способ исследования препарата РЖ для обнаружения и оценки НВЛ, разработан-

ence of NETs in the saliva of patients with the erosive and ulcerative form of LP during dental visits and throughout LP treatment would be of scientific interest.

PURPOSE OF THE STUDY

to evaluate changes in the levels of NETs and cellular elements in saliva among patients undergoing treatment for erosive and ulcerative oral LP.

METHODS

A comprehensive clinical, laboratory, comparative, prospective study was conducted at City Clinical Dental Polyclinic No. 1 in collaboration with the Central Research Laboratory of Omsk State Medical University, Omsk, Russia. The study focused on patients with the erosive and ulcerative form of LP (n=12), with assessments conducted before treatment (referred to as "LP before treatment") and immediately after treatment (referred to as "LP after treatment"). The median age of patients diagnosed with the erosive and ulcerative form of LP (according to A.L. Mashkilleyson, 1984) was 65.5 years [57.5; 70.3]. The control group comprised 12 age-matched healthy volunteers without oral LP, with a median age of 63 years [47.3; 66.8]. The difference in age between the two groups was not statistically significant (p>0.05). All patients provided voluntary consent for the examination and treatment. The study involved a comprehensive clinical assessment to identify any underlying health issues. Dental status was evaluated, and indices such as the Oral Hygiene Index Simplified (OHI-S), Papillary Marginal Attached Index (PMA index) for assessing gingivitis, and Papilla Bleeding Index (PBI) were determined. The location and extent of morphological changes in the oral mucosa were meticulously recorded. The results were compared before and after treatment to assess the effectiveness of the interventions.

The general management of LP was conducted following the Federal clinical guidelines for the management of patients with lichen planus (Moscow, Russia, 2015). It involved collaboration with various specialists, including dermatologists, gastroenterologists, endocrinologists, neuropsychologists, and cardiologists. Topical therapy focused on preventing mechanical trauma and the galvanic effects of orthopedic implants. The damaged mucosa was treated with a 0.2% chlorhexidine gluconate gel for up to 10 days, and painkillers were administered as needed. In cases where *Candida* species were detected in scrapings from the lesions, antifungal medications were prescribed. Reparative treatments were also included in the topical therapy. Additionally, all patients received periodontal treatment and were encouraged to quit smoking, reduce alcohol consumption, and follow a specific diet plan.

Samples were obtained from healthy individuals and patients with oral LP before and after treatment to investigate the variations in the levels of NETs and cellular components in saliva. Before saliva collection, patients rinsed their mouths with 100 ml of saline solution. Saliva samples, totaling 1-2 ml, were collected in Eppendorf tubes. Our research team has developed a novel technique for analyzing saliva samples to detect and evaluate NETs. This method is currently being processed for intellectual property rights registration. In this technique, the collected saliva is mixed with a phosphate buffer solution at pH=7.4 in a 1:1 ratio. Then, two parts of the diluted saliva are transferred to a glass

ный членами авторского коллектива (в настоящее время способ заявлен для регистрации прав интеллектуальной собственности). Для этого собранная для исследования РЖ разводилась фосфатным буферным раствором при pH=7,4 в соотношении 1:1, при этом 2 части разведённой ротовой жидкости переносились на предметное стекло, добавлялись 1 часть йодида пропидия в концентрации 0,1 мг/мл и 1 часть моноклональных антител к CD45, меченных FITC, предварительно разведённых фосфатным буферным раствором при pH=7,4 в соотношении 1:10. Препарат инкубировался под покровным стеклом в водяной бане в темноте в течение 5 минут при 37°C.

Методом люминесцентной микроскопии (возбуждающий свет – 450-480 нм; эмиссия – 515 нм), в препарате РЖ обнаруживались и рассчитывались процентное содержание следующих элементов (рис. 1):

- нитевидных НВЛ – красно-оранжевых ловушек, структурированных в форме одной или нескольких нитей (рис. 1а);
- облаковидных НВЛ – ловушек красно-оранжевого цвета в форме гомогенного «облака», в центре которого визуализируется клетка, сформировавшая НВЛ (рис. 1б);
- клеток раннего нетоза – гранулоцита с красно-оранжевым ядром и выходом ДНК в одной или нескольких локациях (рис. 1с);
- лейкоцитов – клеток ярко-зелёного цвета без окрашенного ядра или с красно-оранжевым ядром (рис. 1д);
- одиночных эпителиоцитов (рис. 1е); пластов эпителиоцитов – нескольких эпителиоцитов, расположенных группой и имеющих плотные контакты друг с другом (рис. 1ф).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась в программе STATISTICA 6.0. Проводилась проверка на нормальность распределения количественных переменных (тест Шапиро-Уилка (W)). Количественные данные представлены в формате Me [Q1; Q3], минимального и максимального значения (min-max). При сравнении независимых выборок (контрольная группа и группа пациентов с КПЛ) использован U-тест Манна-Уитни. Для сопоставления результатов исследования в группе пациентов с КПЛ в исследовательских точках до и после лечения использовался T-критерий Вилкоксона. Статистически значимыми считались различия в сравниваемых группах при достигнутом уровне статистической значимости менее 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно данным консультативного заключения терапевта, у всех пациентов с КПЛ диагностирована соматическая патология: у 9 из 12 – заболевания ЖКТ; у 8 из 12 – заболевания сердечно-сосудистой системы; у 7 из 12 – эндокринная патология; у 4 из 12 – аллергические заболевания; у 8 из 12 – вирусные заболевания. В группе КПЛ неудовлетворительная гигиена полости рта отмечалась у 9 пациентов, плохая гигиена – у 3.

Индексы ОНН-С, РВН и РМА у всех пациентов контрольной группы статистически значимо отличались от показателей индексов в группе КПЛ в исследовательской точке «КПЛ до лечения» (табл.). У всех пациентов с КПЛ в процессе лечения была достигнута стадия ремиссии, которая характеризовалась отсутствием жалоб и эпителизацией эрозий. В исследовательской точке «КПЛ после лечения» наблюдалось статистически значимое улучшение всех индексов в сравнении с исследовательской точкой «КПЛ до лечения» (табл.).

slide. Then, 1 part of propidium iodide at a concentration of 0.1 mg/ml and 1 part of monoclonal FITC-labeled anti-mouse CD45 (previously diluted with a phosphate buffer solution at pH=7.4 in a 1:10 ratio) are added to the glass slide. The specimen was placed under a cover glass and incubated in a water bath at 37°C without light for 5 minutes.

Using fluorescence microscopy with an excitation light at 450-480 nm and an emission of 515 nm, we were able to identify and quantify the presence of various elements in the saliva preparation (Fig. 1):

- Filiform NETs: These red-orange traps are structured as one or more threads (Fig. 1a).
- Cloud-like NETs: These red-orange traps resemble a homogeneous "cloud", with the central cell that formed the NETs being visible (Fig. 1b).
- Early NETosis cells: Granulocytes with red-orange nuclei and DNA release in one or more locations (Fig. 1c).
- Leukocytes: Bright green cells without a stained nucleus or with a red-orange nucleus (Fig. 1d).
- Single epithelial cells (Fig. 1e).
- Clusters of epithelial cells: Several epithelial cells are grouped together and tightly interconnected (Fig. 1f).

The data was analyzed using STATISTICA for Windows (Statsoft Inc. (2001) Statistica software, v. 6. Statsoft Inc., Tulsa, 2001, OK, USA). Quantitative variables were assessed for the normal distribution using Shapiro-Wilk's test. The central tendency is described as the median, lower (Q1), and upper (Q3) quartiles, as well as the minimum and maximum values, and presented in Me [Q1-Q3], min-max format. The Mann-Whitney U-test was used to compare a difference in the dependent variable between two independent groups (the control group and the group of patients with LP). The Wilcoxon T-test was used to compare the study results in patients with LP at the research points before and after treatment. Differences in the compared groups were considered statistically significant if the achieved level of statistical significance was less than 0.05 ($p < 0.05$).

RESULTS

The therapist counseling notes indicated that all patients with LP were found to have various comorbidities. Specifically, 9 out of 12 patients had gastrointestinal diseases, 8 out of 12 had cardiovascular diseases, 7 out of 12 had endocrine disorders, 4 out of 12 had allergic diseases, and 8 out of 12 had viral diseases. Additionally, nine patients exhibited poor oral hygiene within the LP group, while three had poor personal hygiene.

Furthermore, the ОНН-С (Oral Hygiene Index-Simplified), РВН (Papillary Bleeding Index), and РМА (Russell's Modified Arnett Index) in all patients of the control group showed statistically significant differences from those in the LP group at the "LP before treatment" research point (as shown in Table). After undergoing treatment, all patients with LP achieved the remission stage, characterized by the absence of complaints and epithelialization of erosions. Notably, at the "LP after treatment" research point, a statistically significant improvement in all indices was observed compared to the "LP before treatment" point (as shown in Table).

In the saliva samples of all the groups studied a high proportion of neutrophils were observed to form filiform NETs. Specifically, in patients with LP before treatment, the proportion of filiform traps was 7.7 times higher than in the control group (Fig. 2). The saliva preparation of patients with LP before treatment showed a statistically significant increase in filiform traps (17.1 [13.1; 25.5]) compared to the

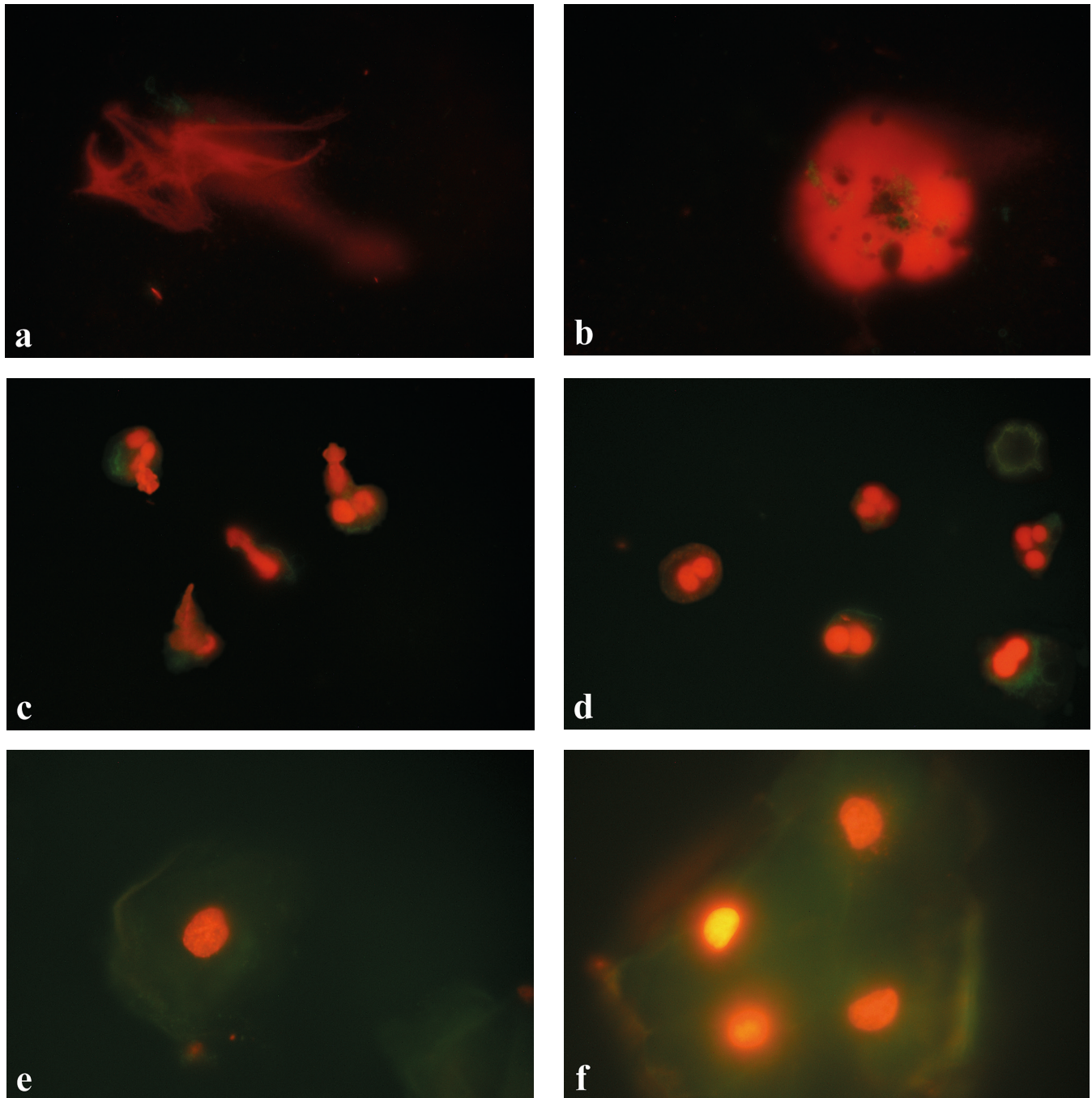


Рис. 1 Примеры микрофотографий, визуализируемых в РЖ: (а) нитевидные НВЛ, (б) облаковидные НВЛ, (с) клетки раннего нетоза, (д) лейкоциты, (е) одиночные эпителиоциты, (ф) пласты эпителиоцитов. Люминесцентная микроскопия. Ув. $\times 1000$

Fig. 1 Fluorescence microscopy images of neutrophils forming neutrophil extracellular traps (NETs) visualized in saliva: a – filiform NETs; b – cloud-like NETs; c – early NETosis cells; d – leukocytes; e – single epithelial cells; f – epithelial clusters (Original photo, magnification $\times 1000$)

Нейтрофилы РЖ всех исследуемых групп чаще всего формировали нитевидные НВЛ, причём у пациентов с КПЛ до лечения их доля была в 7,7 раз больше, чем в контрольной группе (рис. 2). В препарате РЖ у пациентов с КПЛ в исследовательской точке «до лечения» нитевидных ловушек (17,1 [13,1; 25,5]) было статистически значимо больше ($p < 0,001$) относительно их доли в препарате контрольной группы (2,2; [1,2; 3,1]). После лечения КПЛ интенсивность формирования нитевидных ловушек снизилась на 58% (7,2; [5,6; 10,1], $p = 0,005$) по отношению к исследовательской точке «КПЛ до лечения» (рис. 2). Несмотря на выраженное уменьшение доли нитевидных НВЛ у пациентов с КПЛ после лечения,

control group (2.2; [1.2; 3.1]). Following treatment for LP, there was a 58% reduction in the intensity of filiform trap formation (7.2; [5.6; 10.1], $p = 0.005$) compared to the pre-treatment stage (Fig. 2). Despite this decrease, the percentage of filiform NETs in patients with LP after treatment still significantly exceeded the values of the control group (2.2; [1.2; 3.1], $p < 0.001$) as shown in Fig. 2.

In the study, it was found that cloud-like NETs were not present in the saliva under normal conditions (Fig. 2). However, during the acute inflammatory process in the oral cavity, particularly in the erosive-ulcerative form of LP, neutrophils actively formed cloud-like NETs (Fig. 2). Following anti-inflammatory therapy, along with visible

Таблица Оценка индексов гигиены, воспаления и кровоточивости в контрольной группе и у пациентов с КПЛ в исследовательских точках «КПЛ до лечения» и «КПЛ после лечения», Me [Q1; Q3]

Table Evaluation of gingival indices in the control group and patients with LP at two specific research points: "LP before treatment" and "LP after treatment", Me [Q1; Q3]

Индексы Gingival indices	Исследуемые группы/Groups		
	Контроль Control	КПЛ до лечения LP before treatment	КПЛ после лечения LP after treatment
Индекс гигиены (ОHI-S)	1.60 [1.45; 1.78]	2.05 [1.90; 2.25] $p_1=0.003$	1.70 [1.30; 1.95] $p_1>0.05$ $p_2=0.029$
Индекс кровоточивости (PBI)	0.97 [0.76; 1.06]	2.63 [2.45; 2.87] $p_1<0.001$	1.48 [1.31; 1.55] $p_1<0.001$ $p_2<0.001$
Индекс воспаления (РМА), %	25.0 [19.0; 27.3]	63.0 [45.5; 74.8] $p_1<0.001$	26.5 [25.0; 29.3] $p_1>0.05$ $p_2<0.001$

Примечания: p_1 – статистическая значимость различий по отношению к контрольной группе (U-тест Манна-Уитни); p_2 – статистическая значимость различий между исследовательскими точками «КПЛ до лечения» и «КПЛ после лечения» (Т-критерий Вилкоксона)

Notes: p_1 – statistical significance of differences between the groups (according to Mann-Whitney U-test); p_2 – statistical significance of differences between the research points "LP before treatment" and "LP after treatment" (according to Wilcoxon T-test)

процент этого типа ловушек, по-прежнему, статистически значимо ($p<0,001$) превышал значения контрольной группы (2,2; [1,2; 3,1]) (рис. 2).

clinical improvement and the absence of patient complaints, the proportion of cloud-like NETs in the saliva did not show statistically significant changes (Fig. 2).

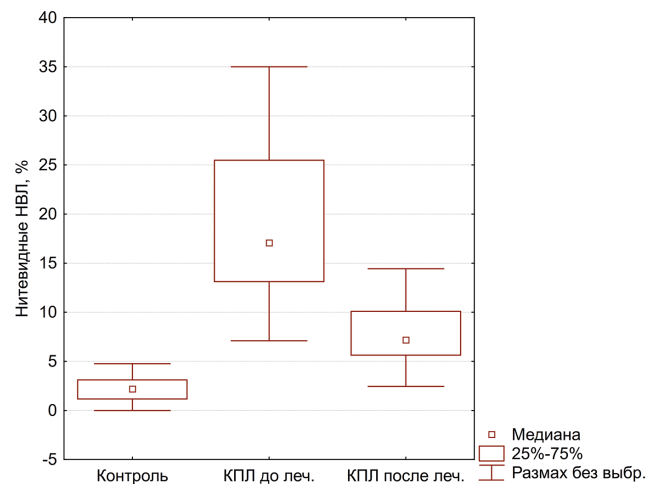
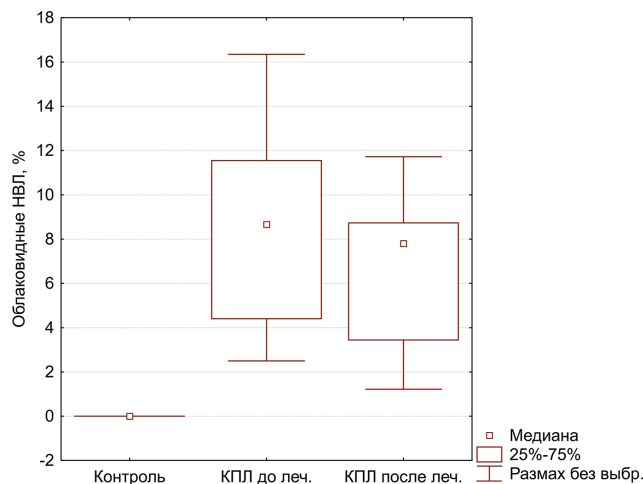
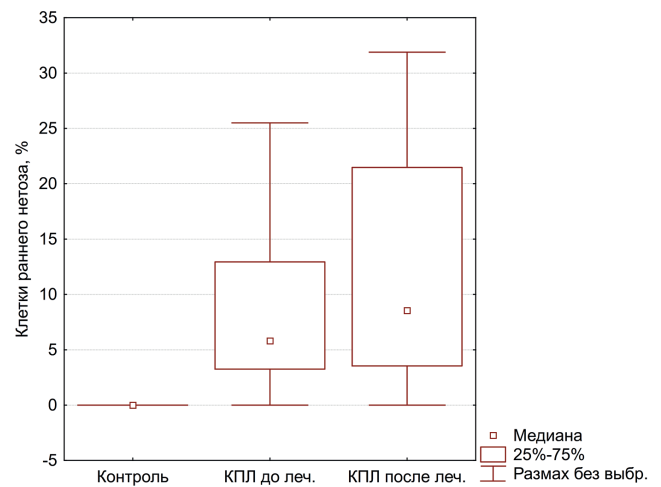
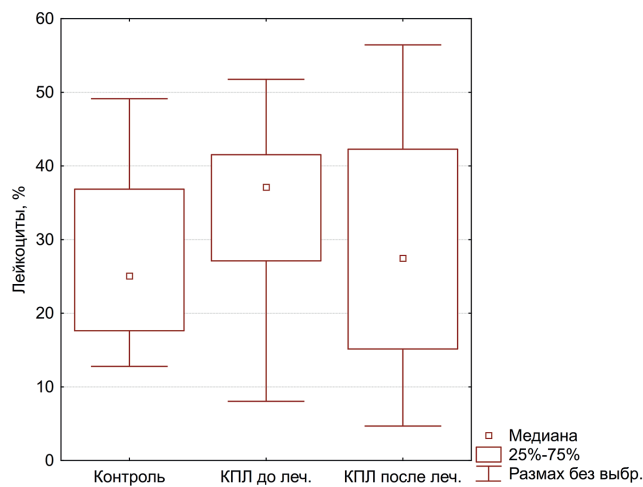


Рис. 2 Доля нитевидных НВЛ, облаковидных НВЛ, клеток раннего нетоза и лейкоцитов в РЖ контрольной группы и у пациентов с КПЛ в исследовательских точках «КПЛ до лечения» и «КПЛ после лечения»

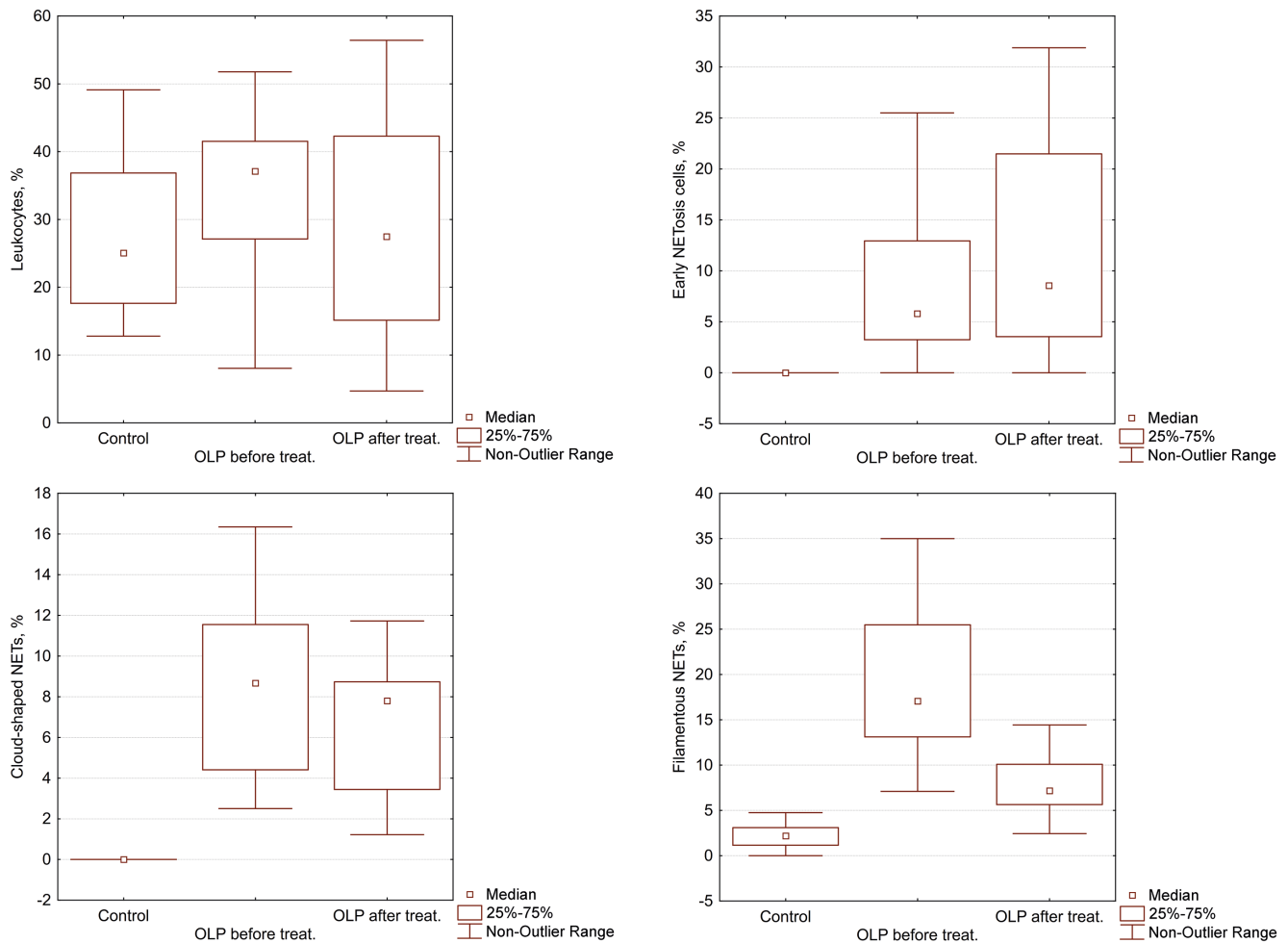


Fig. 2 Graphic presentation of the percentage of filiform NETs, cloud-like NETs, early NETosis cells, and leukocytes in the saliva of the control group and in patients with LP at the research points "LP before treatment" and "LP after treatment"

Важно отметить, что облаковидные НВЛ в препарате РЖ в норме не обнаруживались (рис. 2). Однако при остром воспалительном процессе в полости рта, наблюдаемом при эрозивно-язвенной форме КПЛ, нейтрофилы активно формировали облаковидные НВЛ (рис. 2). После проведенной противовоспалительной терапии на фоне видимого клинического улучшения и отсутствия жалоб у пациентов доля облаковидных НВЛ в РЖ статистически значимо не изменялась (рис. 2).

В препарате РЖ контрольной группы клетки раннего нетоза отсутствовали, но присутствовали у пациентов с КПЛ (рис. 2). Следует отметить, что проводимое лечение не влияло на содержание клеток раннего нетоза в препарате РЖ у пациентов с КПЛ (рис. 2).

Статистически значимых различий содержания в РЖ лейкоцитов в исследуемых группах не отмечалось, что, вероятно, можно объяснить присутствием в РЖ других люминесцентно-позитивных объектов (НВЛ, клетки раннего нетоза), выявляемых предложенным нами методом и не определяемых методами обычной световой микроскопии (рис. 2). При исследовании препарата РЖ после окраски по Романовскому-Гимзе у пациентов с КПЛ в РЖ наблюдалось увеличение содержания лейкоцитов.

В контрольной группе процент одиночных эпителиоцитов в РЖ (Me=72,5) был статистически значимо выше относительно их доли в исследовательских точках «КПЛ до лечения» (Me=23,2; $p<0,001$) и «КПЛ после лечения» (Me=39,9; $p<0,001$) (рис. 3). Доля одиночных эпителиоцитов у пациентов с КПЛ после лечения была выше, чем до лечения ($p=0,001$) (рис. 3).

Early NETosis cells were not found in the saliva samples of the control group. However, they were present in patients with LP, as shown in Fig. 2. It is important to note that the treatment did not impact the presence of early NETosis cells in the saliva samples of patients with LP (Fig. 2).

There were no significant differences in the levels of leukocytes in saliva of patients with LP, possibly due to the presence of other luminescent-positive objects (NETs, early NETosis cells) in the saliva, detected by the new method we proposed, which are not identifiable through traditional light microscopy (Fig. 2). When examining the saliva samples of LP patients with Romanovsky-Giemsa staining, an increase in the leukocytes levels was observed.

In the control group, it was found that the percentage of single epithelial cells in the saliva (Me=72.5) was statistically significantly higher compared to their proportion at the "LP before treatment" research point (Me=23.2; $p<0.001$) and "LP after treatment" (Me=39.9; $p<0.001$) as shown in Fig. 3. Additionally, the proportion of single epithelial cells in patients with LP after treatment was observed to be higher than before treatment ($p=0.001$) (Fig. 3).

In patients with LP, it was found that the content of epithelial clusters in the saliva was significantly higher ($p<0.001$) compared to the control group both before and after treatment. After the treatment, the proportion of epithelial clusters decreased substantially by 1.9 times ($p=0.005$), as shown in Fig. 3.

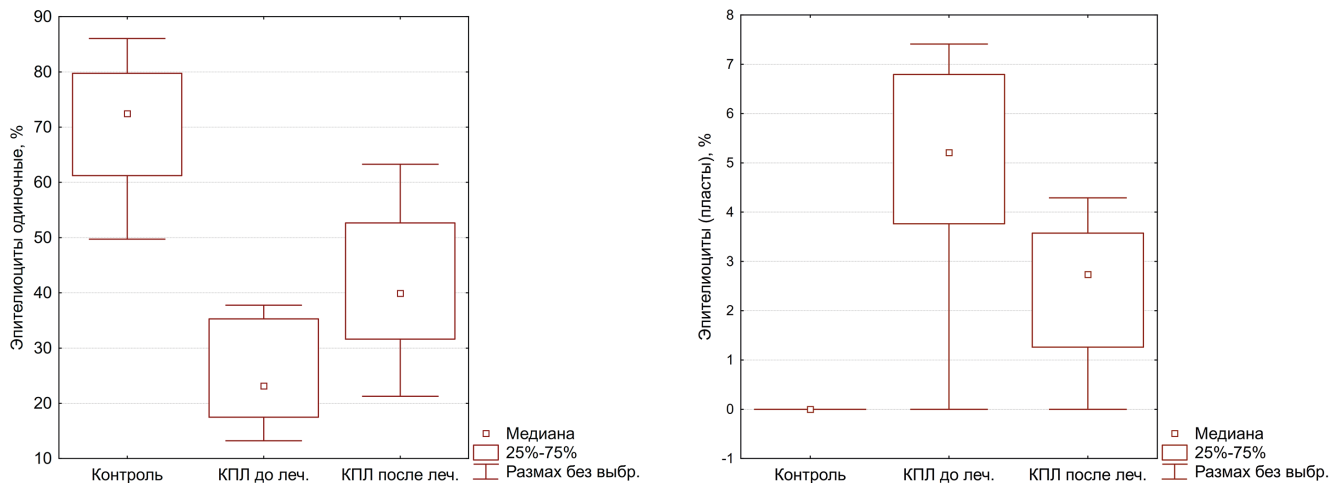


Fig. 3 Доля одиночных эпителиоцитов и пластов эпителиоцитов в РЖ контрольной группы и у пациентов с КПЛ в исследовательских точках «КПЛ до лечения» и «КПЛ после лечения»

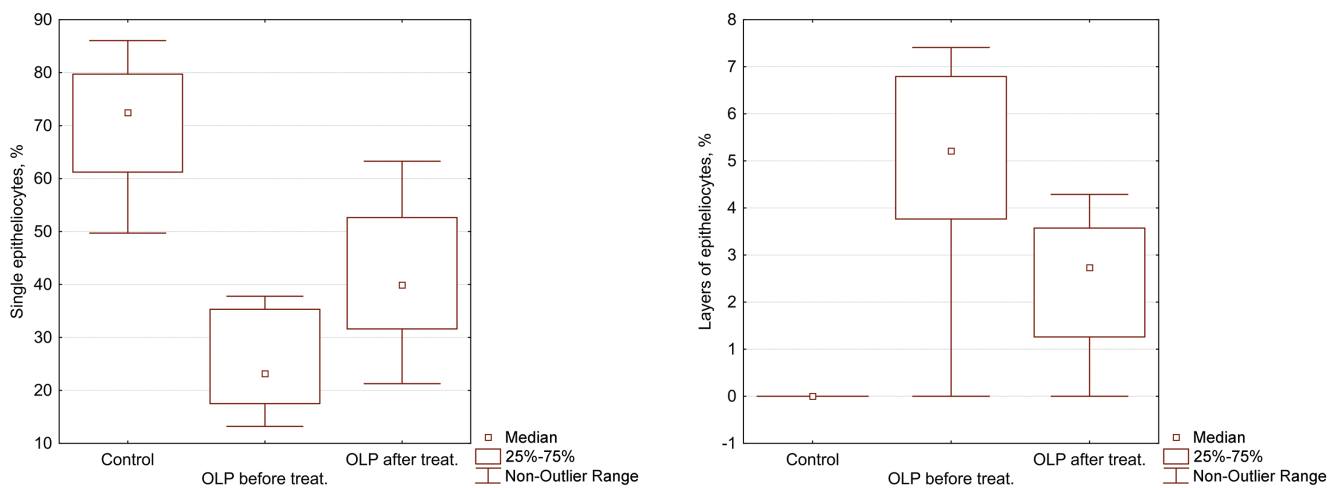


Fig. 3 Graphic presentation of the percentage of single epithelial cells and epithelial cell clusters in the saliva of the control group and in patients at the research points "LP before treatment" and "LP after treatment"

У пациентов с КПЛ до и после лечения содержание «пластов» эпителия в РЖ статистически значимо ($p < 0,001$) превышало значения контрольной группы. После лечения доля эпителиальных «пластов» статистически значимо ($p = 0,005$) снизилась в 1,9 раз (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе РЖ, следует помнить, что мы получаем смыв со всех участков и всех органов полости рта, значит, мы анализируем «среднее» содержание НВЛ, формирующихся как на участках эрозий при КПЛ, так и с десневой борозды, имеющих пародонтальных карманов, на фоне неудовлетворительной гигиены полости рта.

Слущивание клеток буккального эпителия рассматривается как звено неспецифической местной защиты. Некоторые авторы наблюдали изменение качественной характеристики буккального эпителия, а именно увеличение частоты клеток с аномалиями ядер, без акцента на количественное отличие клеток буккального эпителия в норме и при КПЛ. Так, при увеличении микробной нагрузки в десневой жидкости увеличивается содержание эпителиальных клеток, что указывает на сохранение защитной функции.

DISCUSSION

When examining saliva, it is essential to remember that we are collecting a sample that contains a mixture of secretions from various parts and organs within the oral cavity. This peculiarity means that we are analyzing the overall levels of NETs, which are formed in areas of erosion in LP and from the gingival groove and existing periodontal pockets in the settings of inadequate oral hygiene.

The shedding of buccal epithelial cells plays a role in nonspecific local protection. Some researchers have observed changes in the qualitative characteristics of buccal epithelium, such as an increase in the frequency of cells with nuclear abnormalities, without emphasizing the quantitative differences between buccal epithelial cells under normal conditions and those with LP. Consequently, as the microbial load in the gingival fluid increases, the content of epithelial cells also increases, suggesting the preservation of the protective function. Based on the data gathered, patients with LP exhibit a reduced proportion of single epithelial cells but a statistically significant five-fold increase in the proportion of epithelial clusters compared to the control group [21]. Another study examined the critical intra- and extracellular components involved in the attachment of hemidesmosomes in LP. It has been proven that in LP, hemidesmosomes of basal epithelial

Согласно полученным данным у пациентов с КПЛ снижена доля одиночных эпителиоцитов, но статистически значимо увеличена доля «пластов» эпителия в 5 раз по отношению к контролю [21]. В другом исследовании были изучены ключевые внутри- и внеклеточные компоненты, участвующие в прикреплении гемидесмосом при КПЛ. Доказано, что при КПЛ гемидесмосомы базальных эпителиоцитов дестабилизированы, недостаточно прикреплены к базальной мембране, что возможно объясняет наличие большой доли эпителиальных пластов в РЖ [22]. При КПЛ морфологически подтверждена «деструкция базальной мембраны и формирование размытой границы между эпителием и соединительнотканной основой слизистой оболочки» [23].

Согласно исследованиям, в РЖ при КПЛ повышается уровень сывороточного маркера активации нейтрофилов кальпротектина [4]. Морфологические изменения СОР при КПЛ описываются как «активная инвазия в слои эпителия лимфоцитов с формированием локальных групп иммунокомпетентных клеток, повышенная миграция нейтрофильных гранулоцитов и эозинофилов» [23]. При КПЛ для формирования нейтрофилами НВЛ есть все «условия»: дисбиотический сдвиг микробиоты СОР с увеличением грамотрицательных микроорганизмов [6], повышенные уровни TNF- α , IFN- α [4, 24, 25], дисбаланс прооксидантов и антиоксидантов, и, как результат, повышенное содержание активных форм кислорода [26]. Результаты нашего исследования продемонстрировали, что при КПЛ воспалительный процесс в СОР сопровождается повышением доли клеток раннего нетоза и НВЛ. До лечения у пациентов с КПЛ, доля нитевидных и облаковидных НВЛ в РЖ превышала значения контрольной группы. При этом доля нитевидного нетоза превышала облаковидный в 2 раза. После лечения доля нитевидных НВЛ статистически значимо снижается, но всё же не достигает контрольных значений, а доля НВЛ облаковидного типа после лечения имеет лишь тенденцию к снижению, статистически значимо не отличаясь от значений, определённых в препарате РЖ до лечения. Согласно литературным данным, облаковидный нетоз характерен для иммунопатологических процессов [27]. Облаковидные НВЛ оказывают выраженное повреждающее действие на ткани, а защитные эффекты у облаковидных ловушек практически отсутствуют. Мы предполагаем, что облаковидные НВЛ продолжают оказывать повреждающее действие на СОР, что, в конечном итоге, может обуславливать нестойкость ремиссии. По нашему мнению, сохраняющееся присутствие в РЖ у пациентов с КПЛ нитевидных и облаковидных НВЛ можно рассматривать как признак незавершённости воспалительного процесса, что может свидетельствовать о наступлении недостаточно устойчивой ремиссии на фоне улучшения клинической картины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, повышение содержания НВЛ и клеток раннего нетоза в РЖ у пациентов с эрозивно-язвенной формой КПЛ, с одной стороны, может стать одним из объективных и чувствительных маркеров в оценке завершённости воспалительного процесса и стойкости ремиссии. С другой стороны, избыточно образующиеся при КПЛ нейтрофильные ловушки, сами по себе являются одним из повреждающих факторов, а значит, могут рассматриваться как одна из потенциальных терапевтических целей для применения препаратов, эффекты которых направлены на коррекцию избыточного нетоза. Изучение нетоза при КПЛ требует дальнейшего анализа для возможного определения референтных значений, определяющих наступление стойкой ремиссии через оценку содержания в РЖ не только лейкоцитов, эпителиоцитов и пластов эпителия, но и облаковидных НВЛ, нитевидных НВЛ, клеток раннего нетоза.

cells are destabilized and insufficiently attached to the basement membrane, possibly explaining the presence of a large proportion of epithelial clusters in the saliva [22]. In LP, the morphological changes involve the destruction of the basement membrane and the formation of a blurred boundary between the epithelium and the connective tissue base of the mucous membrane [23].

Research indicates that the calprotectin level, a serum marker of neutrophil activation, increases in saliva with LP [4]. The oral mucous membrane (OMM) shows morphological changes with LP, such as active invasion of lymphocytes into the epithelial layers, formation of local groups of immunocompetent cells, and increased migration of neutrophilic granulocytes and eosinophils [23]. In LP, several conditions favor the formation of NETs: dysbiosis of the oral microbiota with an increase in gram-negative microorganisms [6], elevated levels of TNF- α , IFN- α [4, 24, 25], an imbalance of prooxidants and antioxidants, and consequently, elevated levels of reactive oxygen species [26]. The results of our study demonstrated that with LP, the inflammatory process in OMM is accompanied by an increase in the proportion of early NETosis cells and NETs. Before treatment, the proportion of filiform and cloud-like NETs in the saliva of patients with LP exceeded the values in the control group. The proportion of filiform NETs exceeded the cloud-like NETs by two times. After treatment, the proportion of filiform NETs statistically significantly decreases but still does not reach the control group parameters, and the proportion of cloud-like NETs after treatment only tends to decrease, not differing statistically considerably from the values determined in the saliva preparation before treatment. According to literature data, cloud-like NETs are characteristic of immunopathological processes [27]. Cloud-like NETs have a pronounced damaging effect on tissues, and the protective effects of cloud-like NETs are virtually absent. We assume that cloud-like NETs continue to have a detrimental impact on the OMM, which may ultimately cause instability of remission. In our opinion, the persistent presence of filiform and cloud-like NETs in the gastrointestinal tract of patients with LP can indicate the ongoing inflammatory process and insufficiently stable remission despite improvement in the clinical picture.

CONCLUSION

The elevated presence of NETs (neutrophil extracellular traps) and early NETosis cells in the saliva of patients with the erosive-ulcerative form of LP may serve as valuable indicators for evaluating the resolution of inflammation and the stability of remission. However, the excessive formation of NETs in LP can contribute to tissue damage, highlighting the potential of NETs as a therapeutic target. Therefore, further research is needed to establish reference values for assessing stable remission by analyzing levels of salivary leukocytes, epithelial cells, and epithelial clusters, as well as cloud-like NETs, filiform NETs, and early NETosis cells.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

- González-Moles MÁ, Warnakulasuriya S, González-Ruiz I, González-Ruiz L, Ayén Á, Lenouvel D, et al. Worldwide prevalence of oral lichen planus: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis.* 2021;27(4):813-28. <https://doi.org/10.1111/odi.13323>
- Дворянкова ЕВ, Красникова ВН, Корсунская ИМ. Красный плоский лишай в детской практике. *Педиатрия (Прил. к журн. Consilium Medicum)*. 2018;3:116-8.
- Рабинович ОФ, Рабинович ИМ, Абрамова ЕС. Эпидемиология, этиология, патогенез буллёзных поражений слизистой оболочки рта. *Стоматология*. 2019;98(2):71-5. <https://doi.org/10.17116/stomat20199802171>
- Vičić M, Hlača N, Kaštelan M, Brajac I, Sotošek V, Prpić Massari L. Comprehensive insight into lichen planus immunopathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3):3038. <https://doi.org/10.3390/ijms24033038>
- Garley M. Unobvious neutrophil extracellular traps signification in the course of oral squamous cell carcinoma: Current understanding and future perspectives. *Cancer Control.* 2023;30:10732748231159313. <https://doi.org/10.1177/10732748231159313>
- Анисимова ИВ, Симонян ЛА. Частота сочетания красного плоского лишая с соматической патологией и местными неблагоприятными факторами полости рта. *Проблемы стоматологии*. 2019;15(1):16-22. <https://doi.org/10.18481/2077-7566-2019-15-1-16-22>
- Geng L, Zhang X, Tang Y, Gu W. Identification of potential key biomarkers and immune infiltration in oral lichen planus. *Dis Markers.* 2022;26:2022:7386895. <https://doi.org/10.1155/2022/7386895>
- Rai NP, Kumar P, Mustafa SM, Divakar DD, Kheraif AA, Ramakrishnaiah R, et al. Relation between periodontal status and pre-cancerous condition (oral lichen planus): A pilot study. *Adv Clin Exp Med.* 2016;25(4):763-6. <https://doi.org/10.17219/acem/59014>
- Гилева ОС, Кошкин СВ, Либик ТВ, Городтлова ЕА, Халявина ИН. Пародонтологические аспекты заболеваний слизистой оболочки полости рта: красный плоский лишай. *Пародонтология*. 2017;3:9-14.
- Митронин АВ, Володина ЕВ. Динамика сдвигов в клинико-иммунном статусе пациентов с плоским лишаем слизистой оболочки рта в процессе комплексной терапии. *Российская стоматология*. 2009;2(3):41-3.
- Рабинович ОФ, Рабинович ИМ, Абрамова ЕС. Особенности иммунного статуса пациентов с буллёзными поражениями слизистой оболочки рта. *Клиническая стоматология*. 2019;3:32-4. https://doi.org/10.37988/1811-153X_2019_3_32
- Abdel-Haq A, Kusnierz-Cabala B, Darczuk D, Sobuta E, Dumnicka P, Wojas-Pelc A, et al. Interleukin-6 and neopterin levels in the serum and saliva of patients with lichen planus and oral lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 2014;43:734-9. <https://doi.org/10.1111/jop.12199>
- El-Howati A, Thornhill MH, Colley HE, Murdoch C. Immune mechanisms in oral lichen planus. *Oral Dis.* 2023;29(4):1400-5. <https://doi.org/10.1111/odi.14142>
- Khattab FM, Ghonaim R, Samir MA. Estimation of neutrophil activation marker in lichen planus patients. *J Cosmet Dermatol.* 2022;21(4):1625-8. <https://doi.org/10.1111/jocd.14252>
- Старостин ДО, Долгих ВТ, Кузовлев АН. Нейтрофилы как важнейшие факторы неспецифической резистентности организма. *Клиническая патофизиология*. 2023;29(1):28-45.
- Leliefeld PH, Koenderman L, Pillay J. How neutrophils shape adaptive immune responses. *Front Immunol.* 2015;6:471. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00471>
- Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* 2004;303(5663):1532-5. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
- Malech HL, DeLeo FR, Quinn MT. The role of neutrophils in the immune system: An overview. *Methods Mol Biol.* 2020;2087:3-10. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0154-9_1
- Mohanty T, Sjögren J, Kahn F, Abu-Humaidan AH, Fisker N, Assing K, et al. A novel mechanism for NETosis provides antimicrobial defense at the oral mucosa. *Blood.* 2015;126(18):2128-37. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-04-641142>
- González-Moles MÁ, Warnakulasuriya S, González-Ruiz I, González-Ruiz L, Ayén Á, Lenouvel D, et al. Worldwide prevalence of oral lichen planus: A systematic review and meta-analysis. *Oral Dis.* 2021;27(4):813-28. <https://doi.org/10.1111/odi.13323>
- Dvoryankova EV, Krasnikova VN, Korsunskaya IM. Krasnyy ploskiy lishay v detskoj praktike [Red flat lichen in children's practice]. *Pediatriya (Suppl. Consilium Medicum)*. 2018;3:116-8.
- Rabinovich OF, Rabinovich IM, Abramova ES. Epidemiologiya, etiologiya, patogenez bullyoznykh porazheniy slizistoy obolochki rta [Epidemiology, etiology and pathogenesis of oral mucosa bullous lesions]. *Stomatologiya*. 2019;98(2):71-5. <https://doi.org/10.17116/stomat20199802171>
- Vičić M, Hlača N, Kaštelan M, Brajac I, Sotošek V, Prpić Massari L. Comprehensive insight into lichen planus immunopathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3):3038. <https://doi.org/10.3390/ijms24033038>
- Garley M. Unobvious neutrophil extracellular traps signification in the course of oral squamous cell carcinoma: Current understanding and future perspectives. *Cancer Control.* 2023;30:10732748231159313. <https://doi.org/10.1177/10732748231159313>
- Anisimova IV, Simonyan LA. Chastota sochetaniya krasnogo ploskogo lishaya s somaticheskoy patologiej i mestnymi neblagopriyatnymi faktorami polosti rta [The frequency of combination of oral lichen planus with somatic pathology and local unfavorable factors of the oral cavity]. *Problemy stomatologii*. 2019;15(1):16-22. <https://doi.org/10.18481/2077-7566-2019-15-1-16-22>
- Geng L, Zhang X, Tang Y, Gu W. Identification of potential key biomarkers and immune infiltration in oral lichen planus. *Dis Markers.* 2022;26:2022:7386895. <https://doi.org/10.1155/2022/7386895>
- Rai NP, Kumar P, Mustafa SM, Divakar DD, Kheraif AA, Ramakrishnaiah R, et al. Relation between periodontal status and pre-cancerous condition (oral lichen planus): A pilot study. *Adv Clin Exp Med.* 2016;25(4):763-6. <https://doi.org/10.17219/acem/59014>
- Gileva OS, Koshkin SV, Libik TV, Gorodtlova EA, Khalyavina IN. Parodontologicheskie aspekty zabozevaniy slizistoy obolochki polosti rta: krasnyy ploskiy lishay [Periodontal aspects of oral mucosal diseases: Lichen planus]. *Parodontologiya*. 2017;3:9-14.
- Mitronin AV, Volodina EV. Dinamika sdvigo v kliniko-immunnom statuse patsientov s ploskim lishaem slizistoy obolochki rta v protsesse kompleksnoy terapii [Dynamics of clinical and immune status in patients with lichen planus of buccal mucosa during combined therapy]. *Rossiyskaya stomatologiya*. 2009;2(3):41-3.
- Rabinovich OF, Rabinovich IM, Abramova ES. Osobennosti immunnogo statusa patsientov s bullyoznymi porazheniyami slizistoy obolochki rta [Features of the immune status of patients with bullous lesions of the oral mucosa]. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2019;3:32-4. https://doi.org/10.37988/1811-153X_2019_3_32
- Abdel-Haq A, Kusnierz-Cabala B, Darczuk D, Sobuta E, Dumnicka P, Wojas-Pelc A, et al. Interleukin-6 and neopterin levels in the serum and saliva of patients with lichen planus and oral lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 2014;43:734-9. <https://doi.org/10.1111/jop.12199>
- El-Howati A, Thornhill MH, Colley HE, Murdoch C. Immune mechanisms in oral lichen planus. *Oral Dis.* 2023;29(4):1400-5. <https://doi.org/10.1111/odi.14142>
- Khattab FM, Ghonaim R, Samir MA. Estimation of neutrophil activation marker in lichen planus patients. *J Cosmet Dermatol.* 2022;21(4):1625-8. <https://doi.org/10.1111/jocd.14252>
- Starostin DO, Dolgikh VT, Kuzovlev AN. Neytrofilyy kak vazhneyshie faktory nespetsificheskoy rezistentnosti organizma [Neutrophils as important factors of non-specific resistance of the organism]. *Klinicheskaya patofiziologiya*. 2023;29(1):28-45.
- Leliefeld PH, Koenderman L, Pillay J. How neutrophils shape adaptive immune responses. *Front Immunol.* 2015;6:471. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00471>
- Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* 2004;303(5663):1532-5. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
- Malech HL, DeLeo FR, Quinn MT. The role of neutrophils in the immune system: An overview. *Methods Mol Biol.* 2020;2087:3-10. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0154-9_1
- Mohanty T, Sjögren J, Kahn F, Abu-Humaidan AH, Fisker N, Assing K, et al. A novel mechanism for NETosis provides antimicrobial defense at the oral mucosa. *Blood.* 2015;126(18):2128-37. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-04-641142>

20. Vitkov L, Minnich B, Knopf J, Schauer C, Hannig M, Herrmann M. NETs are double-edged swords with the potential to aggravate or resolve periodontal inflammation. *Cells*. 2020;9(12):2614. <https://doi.org/10.3390/cells9122614>
21. Серикова ОВ, Калаев ВН, Васильева АЮ, Калаева ЕА. Аномалии в клетках буккального эпителия у больных красным плоским лишаем слизистой оболочки рта. *Вестник новых медицинских технологий*. 2019;5:7-14. <https://doi.org/10.24411/2075-4094-2019-16383>
22. Schreurs O, Balta M, Karatsaidis A, Schenck K. Composition of hemidesmosomes in basal keratinocytes of normal buccal mucosa and oral lichen planus. *Eur J Oral Sci*. 2020;128:369-78. <https://doi.org/10.1111/eos.12732>
23. Акмалова ГМ, Мусина ЛА, Чуйкин СВ. Морфологические изменения слизистой оболочки полости рта при красном плоском лишае. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2016;2:16-9.
24. Aparna M, Martin H, Luis EM. Clearance deficiency and cell death pathways: A model for the pathogenesis of SLE. *Front Immunol*. 2016;8(7):35. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00035>
25. Niewold TB, Clark DN, Salloum R, Poole BD. Interferon alpha in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:948364. <https://doi.org/10.1155/2010/948364>
26. Georgescu SR, Mitran CI, Mitran MI, Nicolae I, Matei C, Ene CD, et al. Stress in cutaneous lichen planus – A narrative review. *J Clin Med*. 2021;10(12):2692. <https://doi.org/10.3390/jcm10122692>
27. Yousefi S, Simon HU. NETosis – Does it really represent nature's "suicide bomber"? *Front Immunol*. 2016;7:328. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00328>
20. Vitkov L, Minnich B, Knopf J, Schauer C, Hannig M, Herrmann M. NETs are double-edged swords with the potential to aggravate or resolve periodontal inflammation. *Cells*. 2020;9(12):2614. <https://doi.org/10.3390/cells9122614>
21. Serikova OV, Kalaev VN, Vasilieva AY, Kalaeva EA. Anomalii v kletkakh bukkal'nogo epiteliya u bol'nykh krasnym ploskim lishaem slizistoy obolochki rta [Anomalies in cells of buccal epithelium in patients with lichen planus in a mucious oral sheath]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2019;5:7-14. <https://doi.org/10.24411/2075-4094-2019-16383>
22. Schreurs O, Balta M, Karatsaidis A, Schenck K. Composition of hemidesmosomes in basal keratinocytes of normal buccal mucosa and oral lichen planus. *Eur J Oral Sci*. 2020;128:369-78. <https://doi.org/10.1111/eos.12732>
23. Akmalova GM, Musina LA, Chuykin SV. Morfologicheskie izmeneniya slizistoy obolochki polosti rta pri krasnom ploskom lishae [Morphological changes of the mucosa at oral lichen planus]. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2016;2(62):16-9.
24. Aparna M, Martin H, Luis EM. Clearance deficiency and cell death pathways: A model for the pathogenesis of SLE. *Front Immunol*. 2016;8(7):35. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00035>
25. Niewold TB, Clark DN, Salloum R, Poole BD. Interferon alpha in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:948364. <https://doi.org/10.1155/2010/948364>
26. Georgescu SR, Mitran CI, Mitran MI, Nicolae I, Matei C, Ene CD, et al. Stress in cutaneous lichen planus – A narrative review. *J Clin Med*. 2021;10(12):2692. <https://doi.org/10.3390/jcm10122692>
27. Yousefi S, Simon HU. NETosis – Does it really represent nature's "suicide bomber"? *Front Immunol*. 2016;7:328. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00328>

И СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Золотов Александр Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории; доцент кафедры патофизиологии, Омский государственный медицинский университет

Researcher ID: AGJ-2533-2022
Scopus ID: 6701390654
ORCID ID: 0000-0002-6775-323X
SPIN-код: 1040-8526
Author ID: 693528
E-mail: azolotov@mail.ru

Золотова Людмила Юрьевна, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры терапевтической стоматологии, Омский государственный медицинский университет

Researcher ID: JXN-4645-2024
ORCID ID: 0009-0001-4701-0631
SPIN-код: 9599-6146
Author ID: 327828
E-mail: lzolot@mail.ru

Анисимова Ирина Васильевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии, Омский государственный медицинский университет

Researcher ID: KIC-9019-2024
ORCID ID: 0000-0003-0251-5545
SPIN-код: 1553-3642
Author ID: 715662
E-mail: iva254813@yandex.ru

Новиков Дмитрий Георгиевич, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий Центральной научно-исследовательской лаборатории; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ДПО, Омский государственный медицинский университет

Researcher ID: AAB-3713-2020
Scopus ID: 58583187700
ORCID ID: 000-0002-4339-2222
SPIN-код: 1894-0582
Author ID: 691708
E-mail: novikov.dm.omsk@gmail.com

И AUTHORS' INFORMATION

Zolotov Aleksandr Nikolaevich, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher of the Central Research Laboratory; Associate Professor of the Department of Pathophysiology, Omsk State Medical University

Researcher ID: AGJ-2533-2022
Scopus ID: 6701390654
ORCID ID: 0000-0002-6775-323X
SPIN: 1040-8526
Author ID: 693528
E-mail: azolotov@mail.ru

Zolotova Lyudmila Yurievna, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Therapeutic Dentistry, Omsk State Medical University

Researcher ID: JXN-4645-2024
ORCID ID: 0009-0001-4701-0631
SPIN: 9599-6146
Author ID: 327828
E-mail: lzolot@mail.ru

Anisimova Irina Vasilievna, Candidate of Medical Sciences, Assistant of the Department of Therapeutic Dentistry, Omsk State Medical University

Researcher ID: KIC-9019-2024
ORCID ID: 0000-0003-0251-5545
SPIN: 1553-3642
Author ID: 715662
E-mail: iva254813@yandex.ru

Novikov Dmitriy Georgievich, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Central Research Laboratory; Associate Professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Omsk State Medical University

Researcher ID: AAB-3713-2020
Scopus ID: 58583187700
ORCID ID: 000-0002-4339-2222
SPIN: 1894-0582
Author ID: 691708
E-mail: novikov.dm.omsk@gmail.com

Ломиашвили Лариса Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапевтической стоматологии, Омский государственный медицинский университет

Researcher ID: AAK-7433-2021
Scopus ID: 15053277200
ORCID ID: 0000-0003-1678-4658
SPIN-код: 6285-6282
Author ID: 585193
E-mail: lomiasvili@mail.ru

Симонян Лаура Арменовна, ассистент кафедры терапевтической стоматологии, Омский государственный медицинский университет

Researcher ID: HDN-0716-2022
ORCID ID: 0000-0002-0265-1988
SPIN-код: 9952-6910
Author ID: 1007148
E-mail: laura.simonyan@mail.ru

Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов

Работа выполнялась в соответствии с планом НИР Омского государственного медицинского университета «Разработка методов диагностики, лечения и профилактики стоматологических заболеваний» (№ ГР 122021000041-7). Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов и медицинского оборудования авторы не получали

Конфликт интересов: отсутствует

✉ АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Золотова Людмила Юрьевна

кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры терапевтической стоматологии, Омский государственный медицинский университет

644099, Российская Федерация, г. Омск, ул. Ленина, 12
Тел.: +7 (913) 6118000
E-mail: lzolot@mail.ru

ВКЛАД АВТОРОВ

Разработка концепции и дизайна исследования: ЗАН, ЗЛЮ, НДГ
Сбор материала: ЗЛЮ, АИВ, НДГ
Статистическая обработка данных: ЗАН
Анализ полученных данных: ЗАН, ЗЛЮ, НДГ, ЛЛМ, СЛА
Подготовка текста: ЗЛЮ, АИВ, НДГ, СЛА
Редактирование: ЗАН, ЛЛМ
Общая ответственность: ЗАН

Поступила 15.04.24
Принята в печать 28.11.24

Lomiashvili Larisa Mikhaylovna, Doctor of Medical Sciences, Full Professor, Head of the Department of Therapeutic Dentistry, Omsk State Medical University

Researcher ID: AAK-7433-2021
Scopus ID: 15053277200
ORCID ID: 0000-0003-1678-4658
SPIN: 6285-6282
Author ID: 585193
E-mail: iva254813@yandex.ru

Simonyan Laura Armenovna, Assistant of the Department of Therapeutic Dentistry, Omsk State Medical University

Researcher ID: HDN-0716-2022
ORCID ID: 0000-0002-0265-1988
SPIN: 9952-6910
Author ID: 1007148
E-mail: laura.simonyan@mail.ru

Information about support in the form of grants, equipment, medications

The research was carried out in accordance with the research plan of Omsk State Medical University "Development of methods for diagnosis, treatment and prevention of dental diseases" (state registration number – 122021000041-7). The authors did not receive financial support from manufacturers of medicines and medical equipment

Conflicts of interest: The authors have no conflicts of interest

✉ ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:

Zolotova Lyudmila Yurievna

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Therapeutic Dentistry, Omsk State Medical University

644099, Russian Federation, Omsk, Lenina str., 12
Tel.: +7 (913) 6118000
E-mail: lzolot@mail.ru

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conception and design: ZAN, ZLYu, NDG
Data collection: ZLYu, AIV, NDG
Statistical analysis: ZAN
Analysis and interpretation: ZAN, ZLYu, NDG, LLM, SLA
Writing the article: ZLYu, AIV, NDG, SLA
Critical revision of the article: ZAN, LLM
Overall responsibility: ZAN

Submitted 15.04.24
Accepted 28.11.24