

КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТОМАТИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ И ХРОНИЧЕСКИМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Жумакулов Икромжон Гуломжон угли

1 курс клиник ординатор

Самаркандский государственный медицинский Университет
Самарканд, Узбекистан.

Ключевые слова: Острые и хронические лейкозы, стоматит, ротовая жидкость, IgA-антитела и IgG-антитела к транслугтаминазе и глиадину.

Введение: В настоящее время отмечен рост таких онкогематологических заболеваний, как лейкозы, заболеваемость которыми составляет 150–200 случаев в год на 1 млн человек [1, 2], а среди причин смертности от злокачественных ново- образований они занимают 4–5-е место [3]. Это клональные неопластические процессы, исходящие из кроветворных клеток, сопровождающиеся неконтролируемой их пролиферацией и нарушением процесса воспроизводства зрелых клеточных популяций. Известно, что баланс между процессами пролиферации и гибели клеток в процессе гомеостаза подлелжит регуляции многоуровневой энзиматической системой [4], в которой роль маркера апаптоза фактически принадлежит транслугтаминазе, сопровождаясь повышенной ее экспрессией [5]. Кроме того, в процессе апаптоза отдельные клетки подвергаются самодеструкции, соответственно, данный фермент можно рассматривать в качестве основного показателя клеточного обновления. К числу интенсивно обновляющихся клеток принадлежат эпителиоциты, выстилающие слизистую оболочку полости рта. При всех гемобластозах, независимо от их формы, у 19–89% больных вследствие опухолевого роста возникают некротические поражения слизистой оболочки полости рта [6], а у 98% больных острыми лейкозами встречаются заболевания пародонта [7, 8], возникающие на фоне снижения иммунобиологической реактивности организма, являясь при-чиной недостаточной результативности используемой терапии. В связи с этим поиск новых молекулярных индикаторов развития воспалительно-деструктивных изменений слизистой оболочки полости рта, связанных с ферментом транслугтаминазой, поможет предоставить ценную информацию о степени выраженности поражений ротовой полости и обеспечить длительную ремиссию стоматологического, а следовательно, и соматического здоровья пациентов с лейкозами.

Цель работы: рассмотреть клиничко-молекулярные особенности поражений слизистой оболочки полости рта у пациентов с острыми и хроническими лейкозами с помощью определения в ротовой жидкости специфических показателей – антител к транслугтаминазе и глиадину классов иммуноглобулинов А и G.

Материалы и методы: Обследовано 125 пациентов, сформированных в три группы: первая – 45 пациентов с острыми лейкозами (муж-чин – 45%, женщин – 55%), средний возраст – $45 \pm 0,5$ года, среди которых 31 пациент с острым миелобластным лейкозом (M1 и M2 по FAB-классификации) и 14 – с острым лимфобластным лейкозом, вторая группа – 45 пациентов с хроническими лейкозами (мужчин – 47%, женщин – 53%), средний возраст $62 \pm 0,3$ года, среди них 15 больных с хроническим миелолейкозом (Ph-позитивным или bcrabl-позитивным) и 30 – с хроническим лимфолейкозом (B-клеточным); третья группа – 35 практически здоровых лиц, из которых мужчин 36%, женщин – 64%, средний возраст $45 \pm 1,06$ года. Диагноз лейкоза был верифицирован морфологически при микроскопическом исследовании пунктата костного мозга (микроскоп «Zeiss»), иммунологически методом проточной лазерной цитофлуориметрии (проточный цитометр «Facs Calibur», Vecton Dickinson) и генотипически. Клинические методы стоматологического обследования включали выявление жалоб больных; сбор анамнеза; визуальный осмотр полости рта с оценкой состояния слизистой оболочки полости рта и степени

тяжести стоматитов согласно классификации Л. С. Любимовой [9]; индексную оценку: индекс кровоточивости по Мюллеману в модификации Коуэлл, определение индекса гигиены по Федорову– Володкиной, индекса КПУ. Материалом для исследования служила ротовая жидкость, в которой методом иммуноферментного анализа с применением иммуноферментного комплекса, состоящего из вошера «Проплан» и спектрофотометра «Униплан» (Picon, Россия), шейкера «Elmi Sky Line» (Эстония), определяли относительное содержание иммуноглобулинов классов А и G к транслугутиназе и к глиадину. В качестве диагностических тест-систем использовали наборы реагентов «IgA-транслугутиназа-ИФА-Бест», «IgG- транслугутиназа-ИФА-Бест», «IgA-Глиадин-ИФА-Бест» и «IgG-Глиадин-ИФА-Бест» (Россия).

Были изучены формы распределения исследуемых показателей ротовой жидкости обследованных пациентов. Использовали визуальную оценку гистограмм распределения, оценивали показатели скошенности и крутизны, отражавшие асимметрию распределения, тесты на нормальность с помощью критерия Колмогорова– Смирнова с поправкой Лилиефорса и Шапиро– Уилки [10]. Для изучения взаимосвязей метаболических показателей ротовой жидкости применяли ранговый корреляционный анализ Спирмена [11].

Результаты и их обсуждение: Дизайн настоящего исследования строился в соответствии с целью и предполагал выполнение нескольких этапов. На первом из них был выполнен осмотр полости рта, показавший, что среди пациентов с острым миелолейкозом со стоматитом I степени тяжести было 72% лиц, с острым лимфолейкозом – 63%, с хроническим лимфо- лейкозом – 22%, с хроническим миелолейкозом – 26%. Со стоматитом II степени тяжести пациенты с острым миелолейкозом составили 13%, с острым лимфолейкозом – 23%, с хроническим лимфолейкозом – 8%, с хроническим миелолейкозом – 10%. Со стоматитом III степени тяжести оказалось 14% больных с острым миелолейкозом, 10% с острым лимфолейкозом, 5% с хроническим лимфо- лейкозом, 9% с хроническим миелолейкозом. Оценка стоматологического статуса показала, что у пациентов с острыми лейкозами имеются более выраженные изменения стоматологических индексов: КПУ (при остром лимфолейкозе $16,62 \pm 1,72$, при остром миелолейкозе – $12,54 \pm 1,68$), гигиенического индекса по Грину– Вермиллиону (при остром миелолейкозе $3,07 \pm 0,34$ ($p < 0,05$) при остром лимфолейкозе $2,52 \pm 0,28$), индекса кровоточивости по Мюллеману ($p < 0,05$) (при остром миелолейкозе $2,43 \pm 0,26$, при остром лимфолейкозе $1,73 \pm 0,17$), что достоверно ниже, чем в контрольной группе – $6,77 \pm 1,01$ ($p < 0,05$). Перечисленные факты свидетельствуют о высокой интенсивности кариеса, снижении антибактериальной и противовирусной защиты организма, что в сочетании с низким уровнем гигиены полости рта способствует прогрессированию воспалительно-деструктивных изменений при стоматитах. Так, язвенно-некротическое поражение слизистой оболочки отмечалось у 62% больных острым миелолейкозом, у 37% больных острым лимфолейкозом, у 23% больных с хроническим миелолейкозом и у 15% больных с хроническим лимфолейкозом. В связи с этим на втором этапе исследования закономерным оказался вопрос «молекулярного» подтверждения выявленных структурных нарушений соединительной ткани полости рта. В качестве подобных «молекулярных рецепторов» был взят тканевой фермент транслугутиназа – показатель формирования фибронектинколлагеновых трехмерных структур на ранних этапах формирования коллагена [12, 13]. Взаимосвязь этого полимера с локальными механизмами местной резистентности была прослежена посредством белок-белковых взаимодействий – путем изучения содержания антител к транслугутиназе в ротовой жидкости как биологической среде, отражающей состояние полости рта. Оказалось, что в ротовой жидкости больных острыми лейкозами присутствуют антитела класса иммуноглобулинов А к транслугутиназе, причем наибольший уровень наблюдался у пациентов со II степенью тяжести стоматита: $1,90 \pm 0,9$ Ед/мл. Что касается антител к транслугутиназе класса Ig G, наибольшее их количество выявлено у пациентов с I степенью стоматита – $9,98 \pm 1,50$ Ед/мл, причем максимальный уровень антител в этой группе – 23,00 Ед/мл – значительно превышает референтный порог (10,0 Ед/мл). Поскольку транслугутиназа играет важную роль в

обеспечении прочности и непрерывности молекул соединительной ткани за счет образования ковалентной связи между остатком глутамина, лизина и двух молекул фибронектина с коллагеном и другими белками внеклеточного матрикса, увеличение содержания антител к этому полифункциональному ферменту может выступать фактором, дестабилизирующим соединительную ткань. Вследствие подобных молекулярных расстройств у таких пациентов диагностирован геморрагический синдром, причем 77% из них составили больные острым лимфолейкозом со II и III степенью тяжести стоматита. Кровоточивость десен наблюдалась при приеме пищи, чистке зубов, причем у 20% пациентов с острым миелолейкозом и у 14% пациентов с острым лимфолейкозом она была спонтанной. Наряду с этим отмечено, что с увеличением степени поражения наблюдалось падение количества Ig G-антител к транsgлутаминазе вплоть до достоверно наименьшего показателя $1,27 \pm 0,32$ (1,15; $p < 0,05$) Ед/мл при стоматите III степени тяжести. Кроме того, для острых форм гемобластозов характерен гиперпластический синдром с развитием гипертрофического гингивита и гипертрофии миндалин, имеющей симметричное поражение, а также гиперплазии лимфоузлов, при этом в 78% случаев преимущественно одной области. У больных острым миелолейкозом этот синдром наблюдался у 59% больных с I степенью тяжести, у 50% – со II степенью тяжести и у 40% с III степенью тяжести стоматитов, а у больных острым лимфолейкозом у 52% больных с I степенью, 54% со II степенью и 60% с III степенью тяжести стоматитов. Что касается хронических форм лейкозов, гиперпластический синдром диагностирован у 34% больных с хроническим лимфолейкозом при стоматите I степени, у 30% при II степени и у 25% при III степени выраженности стоматитов; у 34% больных хроническим миелолейкозом с I степенью, у 35% пациентов со II степенью и у 24% с III степенью тяжести стоматитов. Наряду с такими клиническими особенностями, у пациентов с хроническими лейкозами наблюдалась следующая «молекулярная картина»: содержание Ig A-антител к транsgлутаминазе нарастало параллельно тяжести стоматита, достигая максимума при III степени – $1,76 \pm 0,53$ (2,5) Ед/мл. В отличие от этого, наибольшее содержание антител к транsgлутаминазе класса Ig G обнаружено при наличии стоматита I степени ($2,44 \pm 0,44$ Ед/мл), а у остальных обследованных значения данного показателя минимальны и достигают наименьшего уровня при стоматитах III степени – $0,35 \pm 0,01$ Ед/мл. По-видимому, при стоматитах II–III степени, сопутствующих и острым, и хроническим лейкозам, молекулярные проявления повреждения более сглажены, свидетельствуя о депрессии иммунных процессов в ротовой полости, усугубляющей течение стоматитов и способствующей снижению качества жизни в целом. Другой путь иммунного ответа организма на тканевую транsgлутаминазу связан с образованием ее комплекса с белком глиадином. Установлено, что в молекуле глиадина есть участок, ответственный за его токсическое действие, распознавание которого как иммунологически активного компонента происходит Т-лимфоцитами, имеющими генетические особенности в виде гетеродимера DQ2, присутствующего у людей, имеющих HLA DR5, 7 и 17. Активация таких Т-лимфоцитов сопровождается индукцией клеточных иммунных реакций с реализацией цитокинов, оказывающих как прямой, так и опосредованный цитотоксический эффект. Кроме того, комплекс транsgлутаминазы с глиадином активизирует пролиферацию и дифференцировку плазматических клеток, которые синтезируют специфические антиглиадиновые антитела [14]. Однако появление антиглиадиновых антител в настоящее время объясняется и обычной иммунной реакцией, что позволяет указать на недостаточную специфичность антиглиадиновых антител и частое их обнаружение у лиц, имеющих в анамнезе целиакию [15], а также многие заболевания соединительной ткани [16]. Также они обнаружены не только в крови, но и в ротовой жидкости, в частности, при хроническом генерализованном пародонтите [17]. В связи с этим на следующем этапе работы было исследовано содержание антител к глиадину в ротовой жидкости пациентов с лейкозами. Выявлено, что наиболее высокое содержание антител к глиадину класса IgA обнаружено у пациентов с тяжелой степенью стоматита: $3,25 \pm 0,86$ Ед/мл (медиана 2,80 Ед/мл), а достоверно наименьшее – при стоматите I степени тяжести: $1,44 \pm 0,19$ Ед/мл (медиана 1,42 Ед/мл; $p < 0,01$) (таблица 2). Среди больных с хроническими лейкозами наименьшее содержание Ig

A-антител к глиадину обнаружено при развитии стоматита I степени – $0,15 \pm 0,04$ (медиана 0,50) Ед/мл, а при II степени тяжести содержание данных антител увеличивается до $2,48 \pm 0,34$ (0,70) Ед/мл. Иммуноглобулин А является регулятором иммунологических процессов, осуществляя взаимодействие с клетками иммунной системы, а также с гуморальными факторами неспецифической защиты (комплемент, лизоцим), и увеличение его содержания в крови можно расценить как позитивный сдвиг, обеспечивающий повышение резистентности организма. Однако, при усугублении тяжести клинических признаков стоматита отмечается тенденция к падению содержания данных антител до $0,15 \pm 0,01$ (0,80) Ед/мл. Антитела к глиадину класса IgG обнаружены в ротовой жидкости пациентов с острыми лейкозами в более низкой концентрации в отличие от IgA-антител: достоверно наибольшая – у лиц со II степенью тяжести стоматита: $1,96 \pm 0,27$ Ед/мл (медиана 1,93 Ед/мл; $p < 0,05$), а наименьшая – у обследованных со стоматитом I степени: $1,55 \pm 0,10$ (1,56) Ед/мл. Эффекторные функции иммуноглобулинов IgG-класса определяют их цитотропные свойства и способность фиксировать комплемент, что дает возможность комплексам антител с антигенами и самих антител закрепляться в тканях и, соединяясь с макрофагами, влиять на клетки-мишени. У пациентов с хроническими лейкозами наблюдалась иная динамика содержания IgG-антител к глиадину: наибольшее количество – при II степени тяжести стоматита ($3,40 \pm 0,20$ Ед/мл), а наименьшее – при стоматите III степени ($1,10 \pm 0,30$ Ед/мл). По-видимому, структура Fab-фрагмента иммуноглобулинов IgG-класса позволяет им служить медиаторами воспаления, что заметно снижает их специфичность, следовательно, любые иммунологические сдвиги неспецифического характера могут найти отражение в изменении концентрации данных иммуноглобулинов в ротовой жидкости. На заключительном этапе работы был проведен анализ корреляционных взаимозависимостей между изученными показателями, который показал, что при острых лейкозах их содержание в 4 раза больше, чем при хронических: между антителами А и G, как к глиадину, так и к транслугуаминазе ($R=0,81$; $p < 0,05$), а также между одноименными антителами: А – к глиадину и транслугуаминазе ($R=0,81$; $p < 0,05$), G – к глиадину и транслугуаминазе. Систематизация полученных данных метаболического профиля ротовой жидкости в сочетании с особенностями специфики стоматологического статуса пациентов позволили разработать способ прогнозирования проявлений стоматита у пациентов с острыми лейкозами по изменению содержания антител к транслугуаминазе классов иммуноглобулинов А и G в ротовой жидкости [18].

Заключение: Результаты исследования свидетельствуют о том, что антитела к транслугуаминазе и глиадину классов А и G присутствуют в ротовой жидкости всех пациентов с лейкозами, являясь молекулярной основой возникновения клинических проявлений поражения слизистой оболочки полости рта в виде геморрагического, язвенно-некротического, гиперпластического синдромов, однако количество их зависит от вида гемобластоза. Так, при остром лейкозе саливадиагностика выявила наиболее высокое содержание IgA-антител к транслугуаминазе и глиадину при стоматитах II–III степени тяжести и IgG-антител к транслугуаминазе при наличии стоматита I степени тяжести. Пациенты с хроническими лейкозами имели наибольший уровень антител к глиадину обоих классов при II степени тяжести стоматита наряду с разнонаправленным содержанием антител к транслугуаминазе: Ig G – при I степени стоматита, Ig A – напротив, при выраженном поражении слизистой полости рта. Таким образом, определение перечисленных метаболических параметров в ротовой жидкости позволяет рассмотреть клинические особенности стоматитов у пациентов с лейкозами в непосредственной взаимосвязи с молекулярными индикаторами их развития, что является актуальным в отношении поиска ранних маркеров целенаправленной диагностики и своевременной коррекции нарушенного метаболизма.

Список литературы

1. Альпидовский В.К., Гармаева Т.Ц. Миелопролиферативные заболевания (хронические опухоли миелоидной системы). М.: РУДН, 2012. Al'pidovskij V.K., Garmaeva T.C. Mieloproliferativnye zabolevaniya (xronicheskie opuxoli mieloidnoj sistemy). М.: RUDN, 2012.
2. Альпидовский В.К., Гармаева Т.Ц. Лимфопролиферативные заболевания (опухоли лимфоидной системы). М.: РУДН, 2012. Al'pidovskij V.K., Garmaeva T.C. Limfoproliferativnye zabolevaniya (opuxoli limfoidnoj sistemy). М.: RUDN, 2012.
3. Гажва С.И. Проявления заболеваний пародонта у больных острыми лей- козами. Нижегородский медицинский журнал. 2002. № 3. С. 51-55. Gzhva S.I. Proyavleniya zabolevanij parodonta u bol'nyx ostrymi lejkozami. Nizhegorodskij medicinskij zhurnal. 2002. № 3. S. 51-55.
4. Engbers-Buijtenhuijs P., Buttafoco L., Poot A.A., Geelkerken R.H., Feijen J. et al. Analysis of the balance between proliferation and apoptosis of cultured vascular smooth muscle cells for tissue-engineering applications. Tissue Eng. 2005.