

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОГНОЗА ТЕЧЕНИЯ ВЕРРУКОЗНОЙ ЛЕЙКОПЛАКИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА

Е.А. Горбатова\*, М.В. Козлова

ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, Москва

## PROGNOSTIC ASSESSMENT OF VERRUCOUS LEUKOPLAKIA IN THE ORAL MUCOUS

E.A. Gorbatova\*, M.V. Kozlova

Central State Medical Academy of Department of President Affairs, Moscow, Russia

\*E-mail: gorbatova\_k@mail.ru

### Аннотация

Частота развития злокачественных новообразований слизистой оболочки рта (СОР) из предопухолевых заболеваний СОР составляет от 61 до 85%. Риск появления дисплазии веррукозной лейкоплакии (ЛП) – 30–70%. Оценка биологических маркеров опухолей в ротовой жидкости крайне актуальна. **Цель исследования** – оценить прогноз течения веррукозной ЛП по концентрации биологических маркеров в ротовой жидкости: матриксной металлопротеиназы-8 (ММП-8), тканевому ингибитору матриксной металлопротеиназы-1 (ТИМП-1), антигену плоскоклеточной карциномы (SCC). **Материалы и методы.** В основную группу вошли 75 больных (25–76 лет) с клиническим диагнозом «веррукозная форма ЛП». Контрольную группу составили 19 практически здоровых человек молодого возраста без патологии СОР. Всем участникам исследования собирали смешанную слюну для определения концентрации биологических маркеров методом иммуноферментного анализа. Всем больным проводили клинический осмотр, устраняли причины хронической травмы, иссекали элементы поражения, контрольный клинический осмотр проводили через шесть месяцев от момента полного выздоровления. **Результаты.** Впервые в ходе исследования у пациентов с веррукозной ЛП зарегистрировали статистически значимое возрастание уровня SCC в смешанной слюне относительно медианы значений ( $p < 0.009$ ) и выше верхнего предела контроля, который можно расценивать как прогностический показатель течения заболеваний. Кроме того, у пациентов с веррукозной ЛП частота выявления показателей белков выше уровней верхних значений контроля: ММП-8 у 39.7% ( $p < 0.041$ ) и SCC у 23.5% ( $p < 0.023$ ). Оба маркера были увеличены у 16.2% больных, только у данных пациентов было выявлено появление новых морфологических элементов при контрольном осмотре ( $p < 0.034$ ). **Заключение.** В ротовой жидкости белки ММП-8 и SCC играли прогностическую роль в определении течения ЛП. В случаях одновременного увеличения концентрации указанных маркеров больше максимальных контрольных значений 335 нг/мл и 985 мкг/мл соответственно наблюдался рецидив заболевания через шесть месяцев.

**Ключевые слова:** лейкоплакия слизистой оболочки рта, веррукозная лейкоплакия, прогноз лейкоплакии, биологические маркеры в смешанной слюне.

### Abstract

The incidence of malignant neoplasms in the oral mucous developed from precancerous lesions ranges from 61 to 85%. According to various literature sources, the risk of verrucous leukoplakia dysplasia is from 30 to 70%. Assessment of biological tumor markers in the oral fluid is extremely relevant. **Purpose.** To assess a prognostic value of biological markers and their concentration in the oral fluid in patients with verrucous leukoplakia: matrix metalloproteinase-8, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, squamous cell carcinoma antigen. **Materials and methods.** 75 patients (aged 25–76) with clinically diagnosed verrucous leukoplakia (LP) were examined. 19 practically healthy subjects without any pathology in their oral mucous were taken in the control group. Mixed saliva was collected from all subject to determine the concentration of biological markers using an enzyme immunoassay. All patients were clinically examined as well. Any trigger of chronic trauma was eliminated, diseased elements were incised. A follow-up clinical examination was performed in six months after full recovery. **Results.** For the first time, as it has been outlined by the researchers, patients with verrucous leukoplakia demonstrate a statistically significant increase in the level of squamous cell carcinoma (SCC) in mixed saliva relative to the median values ( $p < 0.009$ ) and above the upper limit of controls which can be regarded as a prognostic indicator of disease course. In addition, patients with verrucose LP had higher protein levels than levels of upper control values: MMR-8 in 39.7% ( $p < 0.041$ ) and SCC in 23.5% ( $p < 0.023$ ). Both markers were increased in 16.2% of patients; clinical examination revealed new morphological elements in these patients ( $p < 0.034$ ). **Conclusion.** Matrix metalloproteinase-8 proteins and squamous cell carcinoma antigen may play a prognostic role in LP course. If there had been a simultaneous increase in the concentration of these markers more than maximum control values (335 ng/ml and 985 mcg/ml, respectively), a relapse of the disease occurred in 6 months.

**Key words:** leukoplakia, oral mucous, verrucous leukoplakia, leukoplakia prognosis, biological markers in mixed saliva.

**Ссылка для цитирования:** Горбатова Е.А., Козлова М.В. Определение прогноза течения веррукозной лейкоплакии слизистой оболочки рта. *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* 2023; 2: 50–53.

## Введение

Предопухольные заболевания (ПЗ) слизистой оболочки рта (СОР) требуют особого внимания и находятся в области профессиональных компетенций врачей всех стоматологических специальностей.

Под действием различных факторов со временем ПЗ способны изменяться и подвергаться дальнейшему развитию, приобретая злокачественный характер течения [1]. Так, согласно данным литературы, частота развития злокачественных новообразований СОР из ПЗ СОР составляет от 61 до 85%. В группе ПЗ врачи-стоматологи выявляют лейкоплакию (ЛП) в 11% случаев [2].

Плоская ЛП имеет низкий процент злокачественной трансформации (3–15%). По разным литературным источникам, риск появления дисплазии веррукозной ЛП составляет от 30 до 70% [3, 4]. Врачи-клиницисты субъективно выявляют изменения патологического очага, основываясь на внешнем виде: возвышение морфологического элемента над поверхностью СОР, появление бугристости, плотная консистенция при пальпации [5].

В настоящее время идет поиск объективных диагностических методов, которые позволят выявить начало неопластических изменений. Значительное количество научных работ посвящено определению качественных и количественных показателей биологических маркеров опухолей в биологических жидкостях [6].

Было признано, что эндогенные причины могут играть ключевую роль в фундаментальном понимании процесса малигнизации. Одним из таких факторов являются матриксные металлопротеиназы (ММП). ММП часто активируются группами, образующими каскады, усиливающиеся как при воспалительных, так и при злокачественных заболеваниях, и представляют собой большое семейство цинк-зависимых эндопептидаз, которые способны разрушать компоненты базальной мембраны и внеклеточный матрикс. ММП-8 является нейтрофильной коллагеназой, участвующей в репаративных процессах при язвенных поражениях слизистой оболочки [7, 8]. В патогенезе длительных хронических поражений слизистой вследствие расщепления коллагена I типа отмечается существенный рост концентрации ММП-8. Существует предположение, что данная повышенная коллагенолитическая активность возможна в том числе из-за снижения уровня тканевого ингибитора ММП-1 (ТИМП-1) [9].

ТИМП-1 играет основную роль в сохранении целостности тканей и в последнее время становится решающим фактором в оценке ряда патологических состояний. Разностороннее влияние ТИМП-1 на клеточные функции обусловлено двойственностью структуры, содержащей ингибитор ММП и активатор цитокинов. Эта особенность приводит к взаимодействиям с многочисленными ферментативными и поверхностными белками клетки, которые инициируют исключительно широкий спектр эффектов, что объясняет разнообразие биологические последствия экспрессии ТИМП-1 [9].

Антиген плоскоклеточной карциномы (SCC) представляет собой гликопротеин, подтип ассоциированного с опухолью антигена ТА-4, синтезируемый эпителиальными клетками слизистой оболочки. Динамическое исследование концентрации SCC-Ag служит для диагностики рака СОР, шейки матки, пищевода, легких со специфичностью более 80% и мониторинга реакции на лечение, а также для оценки прогноза выживаемости пациентов [10, 11]. Зарубежные исследователи анализировали роль одно- и многофакторных статистических методов при анализе взаимосвязи уве-

личения SCC-Ag с риском развития рецидива, а также со своевременным выявлением метастазов во время лечения и установили значимую корреляцию [12, 13].

Подтверждено, что состав первичной слюны не отличается от сыворотки крови. Данный факт расширяет возможности неинвазивных методов распознавания и изучения патологии на ранних стадиях. В полости рта биомаркеры прямо или косвенно выделяются в смешанную слюну, поэтому ее использование в качестве диагностической жидкости имеет прогностическое значение при различных заболеваниях. Ротовая жидкость омывает элементы поражения слизистой оболочки рта, таким образом поддерживая уровень концентрации изучаемых параметров [14, 15].

*Цель исследования* – оценить прогноз течения веррукозной лейкоплакии по концентрации биологических маркеров в ротовой жидкости: матриксной ММП-8, тканевому ингибитору матриксной ММП-1, антигену плоскоклеточной карциномы.

## Материалы и методы

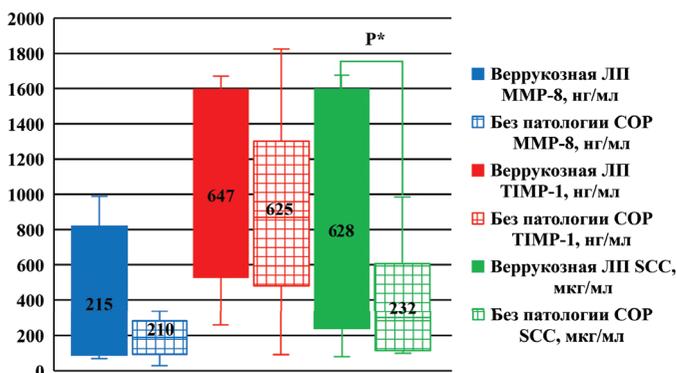
В 2019–2022 гг. на кафедре стоматологии ФГБУ ДПО «ЦГМА» были обследованы 75 пациентов (25–76 лет) с клиническим диагнозом «веррукозная форма ЛП» (по МКБ – K13.2 – лейкоплакия и другие изменения эпителия полости рта), которые составили основную группу. В контрольную группу вошли 19 практически здоровых человек молодого возраста без патологии слизистой оболочки рта.

В ходе исследования проводили сбор жалоб и анамнеза заболевания, особое внимание уделяли наличию вредных привычек, в первую очередь курению. При внешнем осмотре описывали кожные покровы, красную кайму губ, лимфатические узлы региональной области. В полости рта описывали СОР преддверия и свода рта, щек, твердого и мягкого неба, десны, состояние зубов. Выясняли причины хронической травмы: механическую, термическую, химическую.

Рекомендовали исключить острые, кислые, пряные продукты и соблюдать температурный режим приема пищи, отказаться от курения. В первую очередь устраняли причины механической травмы, выполняли профессиональную гигиену, лечили кариес и его осложнения, заменяли пломбы с нарушением краевого прилегания, ортопедические конструкции, не выполняющие функцию, в том числе искусственные коронки из разнородных металлов.

При первом посещении у всех участников исследования (в основной и контрольной группах) собирали нестимулированную смешанную слюну натошак в утренние часы в условиях покоя. Рот ополаскивали водой. Ротовую жидкость объемом 5 мл получали путем сплевывания при отсутствии жевательных движений, замораживали и транспортировали в сумке-холодильнике в лабораторию клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России и хранили при -80 °С. Концентрацию ММП-1, ТИМП-1, SCC в образцах ротовой жидкости определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа. Последующие визиты проводили в основной группе. На следующем визите у пациентов с веррукозной ЛП морфологический очаг иссекали в пределах здоровых тканей и проводили морфологическое исследование. После полного выздоровления контрольный осмотр проводили через шесть месяцев.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 10 (StatSoft Inc, США) с использованием центральной характеристики – медианы, для оценки разброса показателей задействовали квартили, для межгрупповых сравнений использовали непараметрические



**Рис. 1. Концентрация биологических маркеров MMP-8, TIMP-1, SCC пациентов с веррукозной формой ЛП и без патологии СОР ( $p < 0.009$ )**

методы Манна – Уитни (U-тест) и парный тест Уилкоксона. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.041$ .

### Обсуждение

У обследованных без заболеваний СОР выявили медианы значений MMP-8 – 210 нг/мл, TIMP-1 – 625 нг/мл, верхние пределы концентрации – 335 и 1825 нг/мл соответственно, разница наивысших показателей между маркерами составила 5.4 раза (рис. 1).

В группе 1 с веррукозной формой ЛП при исследовании медиан MMP-8 и TIMP-1 не установили статистических различий с пациентами без патологии СОР (группа 2).

При детальном анализе у 25–75% пациентов группы 1 уровень MMP-8 располагался в интервале значений 95.2–761 нг/мл, верхний предел составил 989 нг/мл; уровень белка TIMP-1 (620–1570 нг/мл) имел максимальное значение 1671 нг/мл. TIMP-1 по абсолютным верхним значениям превышал данные MMP-8 в 1.7 раза.

Можно сделать вывод, что в группе с веррукозной ЛП TIMP-1 недостаточно ингибировал активность MMP-8 (которая всегда присутствует при воспалительном процессе) по сравнению с контрольной группой 2 – меньше в 3.2 раза. Данный дисбаланс в том числе объясняет патогенетические изменения в ткани СОР (лимфоидную инфильтрацию, структурные изменения клеточного матрикса), характерные для клинической картины ЛП. Существенный разбор полученных данных уровня маркеров следует интерпретировать как вероятное влияние общесоматической патологии на концентрацию биологических маркеров в ротовой жидкости.

В отношении биомаркера SCC в группе 1 отмечено, что медиана значения SCC в 2.7 раза достоверно выше контроля ( $p < 0.009$ ). Впервые в ходе исследования у пациентов с веррукозной ЛП зарегистрировали статистически значимое возрастание уровня SCC в смешанной слюне относительно медианы значений и выше верхнего предела контроля, который можно расценивать как прогностический показатель течения заболеваний. Полученный результат согласуется с данными литературных источников, в которых выявлена значимая корреляция между увеличением SCC в плазме крови и риском развития рака, а после лечения – возникновения рецидива [16, 17].

Кроме того, у пациентов с веррукозной ЛП частота выявления показателей белков выше уровней верхних значений контроля: MMP-8 у 39.7% ( $p < 0.041$ ) и SCC у 23.5% ( $p < 0.023$ ). Через шесть месяцев после проведенного лечения при клини-

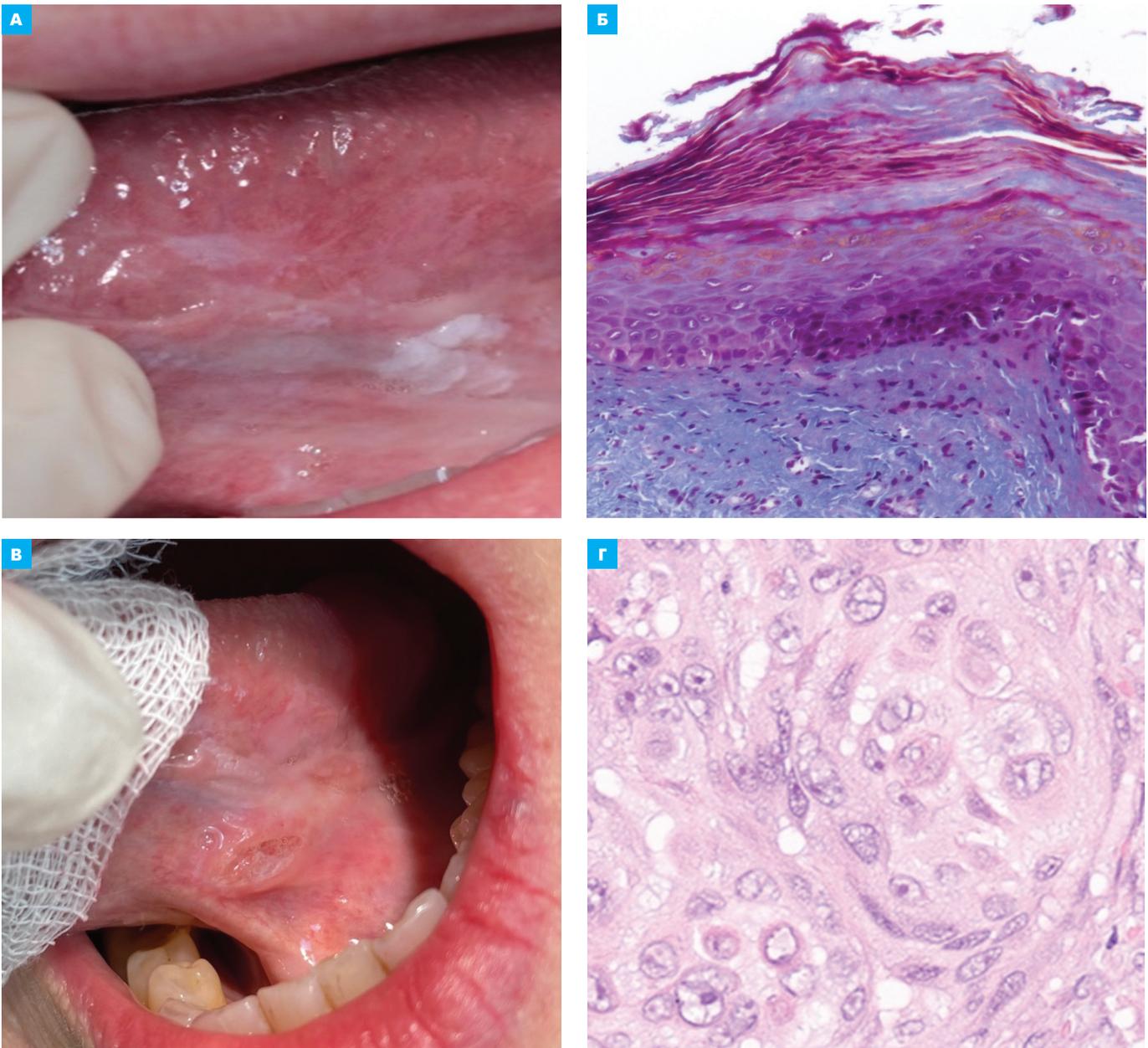
ческом осмотре у 16.2% больных с синхронным увеличением указанных белков установили появление новых морфологических элементов ( $p < 0.034$ ) (рис. 2).

### Заключение

В ротовой жидкости белки матриксной MMP-8 и антигена плоскоклеточной карциномы играли прогностическую роль в определении течения ЛП, в случаях одновременного увеличения концентрации указанных маркеров больше максимальных контрольных значений 335 нг/мл и 985 мкг/мл соответственно наблюдали рецидив заболевания через шесть месяцев.

### Литература

1. Волков Е.В. и др. Тенденции распространенности предраковых заболеваний слизистой оболочки рта // Dental Forum. – 2013. – № 3. – С. 27–28. [Volkov E.V. et al. Trends in the prevalence of precancerous diseases of the oral mucosa // Dental Forum. – 2013. – № 3. – P. 27–28. In Russian].
2. Токмакова С.И. и др. Структура, диагностика, клинические особенности заболеваний слизистой оболочки полости рта и современные технологии комплексного лечения // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – № 1 (5). – С. 90–92. [Tokmakova S.I. et al. Structure, diagnostics, clinical features of diseases of the oral mucosa and modern technologies of complex treatment // Bulletin of medical science. – 2017. – № 1 (5). – P. 90–92. In Russian].
3. Villa A. et al. Leukoplakia – a diagnostic and management algorithm // J Oral Maxillofac Surg. – 2017. – V. 75. – № 4. – P. 723–734.
4. Семкин В.А. и др. Лейкоплакия: клинический и патоморфологический диагноз // Стоматология. – 2017. – Т. 96. – № 1. – С. 72–76. [Semkin V.A. et al. Leukoplakia: clinical and pathomorphological diagnosis // Dentistry. – 2017. – V. 96. – № 1. – P. 72–76. In Russian].
5. Ронь Г.И. и др. Лейкоплакия слизистой оболочки полости рта: аспекты клинической диагностики и лечения // Проблемы стоматологии. – 2006. – № 2. – С. 3–7. [Ron G.I. et al. Leukoplakia of the oral mucosa: aspects of clinical diagnosis and treatment // Problems of dentistry. – 2006. – № 2. – P. 3–7. In Russian].
6. Deepthi G. et al. Salivary tumour necrosis factor- $\alpha$  as a biomarker in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma // Asian Pac J Cancer Prev. – 2019. – V. 20. – № 7. – P. 2087.
7. Kushlinskii N.E. et al. Content of matrix metalloproteinase-8 and matrix metalloproteinase-9 in oral fluid of patients with chronic generalized periodontitis // Bull Exp Biol Med. – 2011. – V. 152. – № 2. – P. 240–244.
8. Sorsa T. et al. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases // Oral Dis. – 2004. – V. 10. – № 6. – P. 311–318.
9. Grünwald B. et al. Recognizing the molecular multifunctionality and interactome of TIMP-1 // Trends Cell Biol. – 2019. – V. 29. – № 1. – P. 6–19.
10. Kotowicz B. et al. The assessment of the prognostic value of tumor markers and cytokines as SCCAg, CYFRA 21.1, IL-6, VEGF and sTNF receptors in patients with squamous cell cervical cancer, particularly with early stage of the disease // Tumor Biol. – 2016. – V. 37. – № 1. – P. 1271–1278.
11. Chen I.H. et al. Using SCC antigen and CRP levels as prognostic biomarkers in recurrent oral cavity squamous cell carcinoma // PLoS One. – 2014. – V. 9. – № 7. – P. e103265.



**Рис. 2.** Пациент Л., 1950 г. р., клиническая картина плоской формы ЛП с концентрацией в слюне ММР-8 – 834 нг/мл, SCC – 1123 мкг/мл до лечения и через 90 дней: **А** – гиперкератотическая бляшка белого цвета, возвышающаяся над поверхностью СОР, с неровными границами, неправильной формы, мягкая при пальпации; **Б** – фрагмент слизистой оболочки с утолщенным эпителиальным слоем, гиперкератозом, акантозом, с отшнурованными акантотическими тяжами; **В** – язва овальной формы, размером 1.3×0.6 см с приподнятыми краями и разрастаниями на дне, эластической консистенции; **Г** – нарушение гистоархитектоники эпителия, гиперхромные ядра, единичные митозы, наличие «роговых» жемчужин в собственной пластинке СОР

12. Liu Z. et al. Prognostic role of squamous cell carcinoma antigen in cervical cancer: a meta-analysis // *Dis Markers*. – 2019. – V. 2019. – P. 6710352.
13. De Paz D. et al. Prognostic roles of SCC antigen, CRP and CYFRA 21-1 in oral cavity squamous cell carcinoma // *Anticancer Res*. – 2019. – V. 39. – № 4. – P. 2025–2033.
14. Hema Shree K. et al. Saliva as a diagnostic tool in oral squamous cell carcinoma – a systematic review with meta-analysis // *Pathol Oncol Res*. – 2019. – V. 25. – P. 447–453.
15. Бельская Л.В. и др. Корреляционные взаимосвязи состава слюны и плазмы крови в норме // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2018. – Т. 63. – № 8. – С. 477–482. [Belskaya L.V. et al. Correlation relationships of saliva and blood plasma composition in normal // *Clinical laboratory diagnostics*. – 2018. – V. 63. – № 8. – P. 477–482. In Russian].
16. Charakorn C. et al. The association between serum squamous cell carcinoma antigen and recurrence and survival of patients with cervical squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis // *Gynecol Oncol*. – 2018. – V. 150. – № 1. – P. 190–200.
17. Travassos D.C. et al. Squamous cell carcinoma antigen as a prognostic marker and its correlation with clinicopathological features in head and neck squamous cell carcinoma: systematic review and meta-analysis // *J Oral Pathol Med*. – 2018. – V. 47. – № 1. – P. 3–10.