МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

О.П. Бочкарева¹, Е.П. Красноженов¹, В.Е. Гольдберг², Н.О. Попова²,
Л.Р. Мустафина¹

*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск¹
ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск²
634050, г. Томск, Московский тракт, 2, e-mail: kepavl@mail.ru¹*

Проведен анализ параметров эпителиоцитов в мазках со слизистой оболочки щеки больных раком легкого. Результаты исследования показали нарушение нормального течения процесса созревания и дифференцировки эпителия слизистой оболочки полости рта, значительные структурные и функциональные изменения буккальных эпителиоцитов, более выраженные после химиотерапии.

Ключевые слова: полость рта, буккальные эпителиоциты, рак легкого.

MORPHOFUNCTIONAL STATE OF BUCCAL EPITHELIOCYTES IN LUNG CANCER PATIENTS

O.P. Bochkareva¹, E.P. Krasnozhenov¹, V.E. Goldberg², N.O. Popova², L.R. Mustafina¹

Siberian State Medical University, Tomsk¹

Cancer Research Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk²

2, Moskovsky Tract, 634050-Tomsk, Russia, e-mail: kepavl@mail.ru¹

Parameters of epitheliocytes in buccal mucosal smears of lung cancer patients were analyzed. The study results showed disturbances in the process of maturation and differentiation of the oral mucosal epithelium, significant structural and functional changes in buccal epitheliocytes, which were more pronounced after chemotherapy.

Key words: oral cavity, buccal epitheliocytes, lung cancer.

Входными воротами для многих возбудителей инфекционно-воспалительных процессов является слизистая оболочка ротовой полости. Эпителию слизистой оболочки рта принадлежит важная роль в реализации ряда защитных механизмов, к которым относятся высокая ферментативная активность, наличие в эпителии большого количества гликогена, высокая интенсивность обменных процессов и их способность к быстрой перестройке. Мукозит в полости рта – опасное осложнение, отягчающее состояние онкологических больных [4–6]. Частота патологии слизистой оболочки полости рта у онкологических больных очень высока, даже в условиях стандартной химиотерапии (ХТ), колеблясь в очень широких пределах [1, 3]. В связи с этим изучение факторов противoinфекционной защиты полости рта у пациентов с онкологической патологией в условиях противоопухолевой химиотерапии является весьма актуальным.

Цель исследования – изучить морфофункциональное состояние буккальных эпителиоцитов как факторов колонизационной резистентности

слизистых оболочек полости рта у больных раком легкого.

Материал и методы

Исследование проводилось на базе кафедры микробиологии и вирусологии Сибирского государственного медицинского университета и отделения химиотерапии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН. Обследовали 39 мужчин и 5 женщин с морфологически подтвержденным диагнозом рака легкого II–IV стадии, находившихся на лечении в отделении химиотерапии для проведения цикловой противоопухолевой терапии. Группу сравнения составили здоровые добровольцы без онкологической патологии (n=20).

Материалом для исследования явились мазки со слизистой оболочки полости рта и нестимулированная смешанная слюна. Мазки фиксировали и окрашивали по методу Романовского–Гимза. Микроскопически вели учет клеток эпителия. В каждом мазке подсчитывали 200 клеток плоского эпителия с учетом степени дифференцировки и деструкции. В цитограмме мазков подсчитывали

индексы созревания – процентное соотношение в мазке поверхностных и промежуточных клеток, кератинизации – процент безъядерных клеток, определяли индекс колонизации буккального эпителия – среднее количество адгезированных бактериальных клеток на одном эпителиоците. Степень деструкции эпителиальных клеток оценивали с учетом следующих морфологических критериев:

0 класс деструкции – клетки с нормальной структурой ядра и цитоплазмы;

1-й класс – клетки с частичным (не более 1/2), деструктивным повреждением цитоплазмы и нормальной структурой ядра;

2-й класс – клетки со значительной (более 1/2), но не полной деструкцией цитоплазмы и частичным деструктивным повреждением ядра;

3-й класс – клетки с полной деструкцией цитоплазмы и значительным, но не полным деструктивным повреждением ядра;

4-й класс – клетки с полной деструкцией ядра и цитоплазмы.

Для оценки состояния местного иммунитета полости рта определяли коэффициент сбалансированности факторов местного иммунитета (Ксб), который является математически интегрированным показателем сбалансированности изучаемых параметров. Формула для определения Ксб составлена с учетом функциональных связей лизоцима с иммуноглобулинами:

$$K_{сб} = \frac{I_{гG} \times 40}{I_{гA} \times 0,6 \times L_{из}}$$

где $I_{гG}$ и $I_{гA}$ – концентрация иммуноглобулинов в г/л; $L_{из}$ – активность лизоцима смешанной слюны в %; 40 % – условная норма активности лизоцима; 0,6 – соотношение $I_{гG}/I_{гA}$ у здоровых.

Количественное определение $I_{гG}$ и $I_{гA}$ в слюне проводили методом радиальной иммунодиффузии по G. Mancini, A.O. Carbonago, в модификации Е.В. Чернохвостовой, С.И. Гольдерман. Активность

лизоцима смешанной слюны определяли фотонейлометрическим методом В.Г. Дорофейчук.

Математическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ «Statistica for Windows 6,0».

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что индекс созревания буккальных эпителиоцитов (БЭ) был более чем в 2 раза выше у больных раком легкого ($39,35 \pm 15,2$) по сравнению с группой сравнения ($13,19 \pm 3,93$) и значительно возрастал у них после проведения курса химиотерапии ($50,04 \pm 3,95$). Изменения данного показателя связаны с уменьшением в этих группах процента поверхностных клеток и повышенным содержанием промежуточных клеточных форм (табл. 1). У больных раком легкого (РЛ) обнаружено увеличение числа безъядерных клеток ($3,32 \pm 0,87$), особенно после химиотерапии (индекс кератинизации $16,7 \pm 0,3$; в группе сравнения $2,1 \pm 0,38$). Среднее число бактерий, колонизирующих эпителиальную клетку – индекс колонизации, – у больных РЛ был в 1,5 раза выше, чем в группе сравнения, и в дальнейшем увеличивался после химиотерапии ($79,06 \pm 3,01$).

Проведенные цитологические исследования показали, что количество эпителиальных клеток с 0 классом деструкции контрольной группы составило $64,4 \pm 1,3$ %, в то время как у больных раком легкого этот показатель был достоверно снижен – $45,0 \pm 2,40$ % (табл. 2). Количество эпителиальных клеток с 1-й классом деструкции у больных раком легкого составило $12,5 \pm 1,25$ %, тогда как в группе сравнения средние значения равнялись $16,9 \pm 0,8$ %. Содержание эпителиальных клеток со 2-м классом деструкции у больных раком легкого не отличалось от показателей в группе сравнения, а количество эпителиоцитов с 3-м классом деструкции находилось в пределах $15,0 \pm 0,8$ %, в контроле – $6,1 \pm 0,45$ %. Содержание БЭ с 4-м классом деструкции было высоким – $23,0 \pm 1,2$ %

Таблица 1

Цитологические параметры буккальных эпителиоцитов в сравниваемых группах ($M \pm m$)

Группы обследуемых	Индекс созревания	Индекс кератинизации	Индекс колонизации
Группа сравнения (n=20)	$13,19 \pm 3,93$	$2,1 \pm 0,38$	$36,75 \pm 4,56$
Больные РЛ до химиотерапии (n=19)	$39,35 \pm 15,2$; $p < 0,05$	$3,32 \pm 0,87$; $p > 0,05$	$52,32 \pm 2,534$ $p < 0,05$
Больные РЛ после химиотерапии (n=18)	$50,04 \pm 3,95$; $p^* < 0,05$	$16,7 \pm 0,3$; $p^* < 0,05$	$79,06 \pm 3,01$; $p^* < 0,05$

Примечание: p – уровень значимости различий результатов между группой сравнения и группой больных раком легкого до лечения; p* – уровень значимости различий результатов между группой сравнения и группой больных раком легкого после химиотерапии.

(контроль – $6,3 \pm 0,95 \%$). После проведения курса ХТ количество эпителиальных клеток с 0 классом деструкции достоверно снижалось по сравнению с группой больных до лечения и равнялось ($28,8 \pm 2,98 \%$). Количество эпителиальных клеток с 3-м и 4-м классами деструкции у больных раком легкого увеличивалось после ХТ – $23,69 \pm 2,10 \%$ и $36,98 \pm 2,31 \%$. Таким образом, для больных раком легкого характерно повышенное содержание БЭ с высокой степенью деструкции. После проведения противоопухолевой химиотерапии отмечается более выраженное снижение количества клеток с малой степенью деструкции (0, 1, 2-й классы) и увеличение количества клеток с максимальной степенью деструкции (3-й, 4-й классы).

В настоящее время признана координирующая роль мукозального эпителия, в том числе и буккальных эпителиоцитов, во взаимодействии врожденного и приобретенного иммунитета. Для оценки состояния мукозального иммунитета полости рта определяли в слюне уровень иммуноглобулина G, секреторного иммуноглобулина A, лизоцима и подсчитывали коэффициент сбалансированности факторов иммунитета. Отмечена более высокая

концентрация IgG в слюне у больных раком легкого ($0,045 \pm 0,001$) по сравнению с группой без онкологической патологии (табл. 3). Химиотерапия вызывала дальнейшее повышение IgG, при этом содержание секреторного иммуноглобулина, напротив, отчетливо снижалось ($0,038-0,022-0,018$). Лизоцимная активность слюны была менее выражена у онкобольных, чем в группе сравнения. Соответственно коэффициент сбалансированности показателей местного иммунитета приобретал высокие значения – 4,24 (норма до 2,0) у онкологических больных, особенно в условиях применения цитостатиков (6,93), что указывает на снижение защитной функции ротовой жидкости, вследствие уменьшения содержания лизоцима и секреторного иммуноглобулина.

Результаты исследования цитологического статуса буккальных эпителиоцитов у больных раком легкого указывают на нарушение нормального течения процесса созревания и дифференцировки эпителия слизистой полости рта. Эти нарушения могут возникать в качестве реакции на микробную колонизацию поверхности эпителия или на инвазию микроорганизмов в его пласт. Почти все

Таблица 2

Степень деструкции буккальных эпителиоцитов в сравниваемых группах (M ± m)

Группы	Степень деструкции эпителиальных клеток				
	0 класс	1-й класс	2-й класс	3-й класс	4-й класс
Группа сравнения (n=20)	64,4 ± 1,3 %	16,90 ± 0,8 %	6,30 ± 1,10 %	6,10 ± 0,45 %	6,30 ± 0,95 %
Больные РЛ до ХТ (n=19)	45,0 ± 2,40 % p<0,05	12,5 ± 1,25 % p<0,05	4,5 ± 1,1 % p>0,05	15,0 ± 0,80 p<0,05	23,0 ± 1,20 % p<0,05
Больные РЛ после ХТ (n=18)	28,80 ± 2,98 % p*<0,05	7,70 ± 0,62 % p*<0,05	2,83 ± 0,18 % p*<0,05	23,69 ± 2,1 % p*<0,05	36,98 ± 2,31 % p*<0,05

Примечание: p – уровень значимости различий результатов между группой сравнения и группой больных раком легкого до лечения; p* – уровень значимости различий результатов между группой сравнения и группой больных раком легкого после химиотерапии.

Таблица 3

Показатели сбалансированности факторов местного иммунитета полости рта в сравниваемых группах (M ± m)

Группы обследуемых	Ig G, г/л	sIg A, г/л	Лизоцим, мкг/мл	Ксб
Группа сравнения (n=19)	0,028 ± 0,001	0,038 ± 0,001	45,37 ± 0,7	1,08 ± 0,05
Больные РЛ до ХТ (n=19)	0,045 ± 0,001; p<0,05	0,022 ± 0,001; p<0,05	32,78 ± 0,71; p<0,05	4,24 ± 0,21; p<0,05
Больные РЛ после ХТ (n=19)	0,053 ± 0,001; p*<0,05	0,018 ± 0,001; p*<0,05	29,05 ± 1,27; p*<0,05	6,93 ± 0,414 p*<0,05

Примечание: p – уровень значимости различий результатов между группой сравнения и группой больных раком легкого до лечения; p* – уровень значимости различий результатов между группой сравнения и группой больных раком легкого после химиотерапии.

противоопухолевые препараты повреждают эпителиальную ткань [2], обладающую повышенной пролиферативной реакцией на повреждающие факторы.

Длительное воздействие повреждающих факторов приводит к значительным структурным изменениям слизистой оболочки, сущность которых сводится к нарушениям фаз клеточного обновления и замещению нормальных эпителиоцитов функционально неполноценными. Снижается способность БЭ к адгезивным взаимодействиям с микроорганизмами, постоянно находящимися в полости рта, что приводит к их накоплению. Нарушение регенерации клеток плоского эпителия ведет к угнетению сборки sIgA и синтеза его секреторного компонента. Длительное антигенное раздражение служит пусковым моментом для включения интенсивного синтеза IgG при подавлении пролиферации клона IgA-продуцирующих клеток. Угнетение процес-

сов регенерации слизистой оболочки полости рта больных раком легкого, усиление деструктивных процессов ведут к нарушению барьерных свойств эпителиального пласта.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Иванова О.В.* Прогнозирование, профилактика и лечение осложнений в полости рта у больных, получающих цитостатики и лучевую терапию: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Астрахань, 2001. 22 с.
2. *Кузьмина Е.Г., Неприна Г.С., Ватин О.Е. и др.* Коррекция вторичных иммунодефицитных состояний индуцированных химиолучевой терапией у онкологических больных // Российский онкологический журнал. 2003. №2. С. 32 – 36.
3. *Токмакова С.И., Луницына Ю.В.* Клинико-морфологическая характеристика язвенно-некротического стоматита на фоне цитостатической терапии острого лейкоза // Сибирский онкологический журнал. 2012. № 4 (52). С. 30–34.
4. *Brown C.G., Wingard J.* Clinical consequences of oral mucositis // *Semin. Oncol. Nurs.* 2004. Vol. 20 (1). P. 16–21.
5. *Epstein J.B., Schubert M.M.* Oropharyngeal mucositis in cancer therapy. Review of pathogenesis, diagnosis, and management // *Oncology (Huntingt).* 2003. Vol. 17 (12). P. 1767–1779.
6. *Sonis S.T.* Mucositis: The impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis // *Oral Oncol.* 2009. Vol. 45(12). P. 1015–1020.

Поступила 29.03.13