

ОСОБЕННОСТИ ГРИБКОВОЙ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ И ЕЕ ДИНАМИКА НА ФОНЕ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ

Егорова Л.И.¹, Жданова М.Л.¹, Толмачева С.М.¹, Тиунова Н.В.¹

¹ ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, Нижний Новгород, Россия, (603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина, 10/1), e-mail: natali5_@list.ru

Изучены особенности грибковой микрофлоры 67 больных плоскоклеточным раком головы и шеи по сравнению с лицами без онкологических заболеваний; показано, что у пациентов с опухолями орофарингеальной зоны кандиды на слизистой оболочке полости рта обнаруживаются чаще и в большем количестве, чем среди лиц, не имеющих онкопатологии. Химиолучевая терапия вызывает статистически значимое возрастание количества и изменения качественного состава грибковой микрофлоры полости рта пациентов. В процессе развития мукозита образуется порочный круг: воздействие ионизирующего излучения снижает колонизационную резистентность слизистой оболочки и способствует размножению кандид, а продукты клеточной стенки кандид служат дополнительным источником стресса для нормальных тканей, усиливая их радиационное повреждение. Совместное применение кандид-раствора и Иммунала позволяет нормализовать микробный ландшафт.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак головы и шеи, химиолучевая терапия, мукозит, профилактика, грибы рода кандиды, кандидоз.

FEATURES OF THE FUNGAL MICROFLORA OF THE ORAL CAVITY OF PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL HEAD AND NECK CANCER AND ITS DYNAMICS ON THE BACKGROUND OF CHEMORADIOTHERAPY

Egorova L.I.¹, Zhdanova M.L.¹, Tolmacheva S.M.¹, Tiunova N.V.¹

Nizhny Novgorod state medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia, (603005, Nizhny Novgorod, Minin square, 10/1), e-mail: natali5_@list.ru

The aim of this study was to analyze the peculiarities of oral fungi flora in 67 patients with squamous-cell head and neck cancer comparing to healthy persons; carriage of *Candida* species in cancer patients appeared to be more often and more intensive, than in control group. Chemoradiation therapy caused a statistically significant increase of colonization index and carriage of oral *Candida* fungi. Besides, quality changes of *Candida* species composition were observed. In the development of mucositis a vicious circle: the impact of ionizing radiation reduces the colonization resistance of the mucosa and promotes the growth of *Candida* and *Candida* cell wall products provide an additional source of stress for normal tissues, increasing their radiation damage. Colonization index of *Candida* was significantly reduced in patients received Immunol and mouth-wash of "Candid-solution" ($P < 0.05$).

Keywords: squamous cell head and neck cancer, chemoradiotherapy, mucositis, prevention, fungi of the genus *Candida*, candidiasis.

В течение последних 10 лет параллельная химиолучевая терапия стала стандартом лечения местно-распространенного плоскоклеточного рака головы и шеи [6, 12]. Ее применение позволило улучшить показатели выживаемости в данной группе пациентов, однако привело к существенному увеличению частоты и тяжести таких побочных эффектов, как мукозит и ксеростомия [1, 13, 18]. Данные осложнения вызывают выраженный болевой синдром, нарушение жевания и глотания и значительно ухудшают качество жизни пациентов [10]. Важную роль в развитии мукозита играют изменения нормальной микрофлоры полости рта, в частности, активация грибковой микрофлоры [15-17]. Микроорганизмы являются источником эндотоксинов, которые усиливают и расширяют локальное повреждение слизистой оболочки.

Инфицирование ими слизистых происходит в ситуации, когда нарушен баланс между механизмами очищения и колонизации и иммунная система человека оказывается не в состоянии сдерживать атаку кандид [11].

В развитии мукозита несомненную роль играет нарушение механизмов местной иммунной защиты, которые имеют сложное строение и характеризуются взаимодействием разнообразных биологических механизмов [7]. Среди гуморальных факторов естественной резистентности наибольшее значение имеют лизоцим, лактоферрин, лактопероксидазы, муцин и другие компоненты, которые участвуют в уничтожении и ингибировании микроорганизмов [8]. Имеются сведения, что развитие лучевого мукозита сопровождается нарушениями местного иммунитета [5], однако исследования, направленные на его коррекцию, до настоящего времени не проводились.

Целью исследования было изучение особенностей грибковой микрофлоры полости рта больных плоскоклеточным раком головы и шеи, а также ее динамики в процессе химиолучевой терапии на фоне стандартной профилактики мукозита и при использовании дополнительных методов коррекции.

Материалы и методы. Исследование грибковой микрофлоры полости рта было проведено у 63 пациентов, находившихся на лечении в Нижегородском областном онкологическом диспансере, и у 28 добровольцев, не имевших онкологического заболевания. Критериями включения в исследование онкологических пациентов были гистологически подтвержденный плоскоклеточный рак полости рта и глотки III–IV стадии, отсутствие ранее специфического лечения по поводу данного заболевания, отсутствие в анамнезе других злокачественных новообразований (кроме рака нижней губы или кожи I–II стадии), общее состояние 0–2 по шкале ECOG, информированное согласие на проведение исследования. Пациентам проводилась параллельная химиолучевая терапия по следующей схеме: один индукционный курс ПХТ (5-ФУ + цисплатин), затем расщепленный курс лучевой терапии в режиме стандартного фракционирования с еженедельным введением цисплатина в дозе 50 мг. Степень тяжести острых лучевых изменений нормальных тканей оценивалась в соответствии со шкалой RTOG/EORTC [9].

Лабораторные методы включали микроскопическое исследование соскоба со слизистой оболочки полости рта и культуральное исследование грибов рода *Candida*. Культуральное исследование проводили для идентификации вида гриба и количественного определения обсемененности дрожжевой флорой слизистой оболочки полости рта. В контрольной группе (лица без онкологической патологии) данное исследование проводили однократно. У онкологических больных первое исследование осуществляли до начала химиолучевой терапии, второе – после подведения СОД 28 – 32 Гр, в период разгара клинических проявлений мукозита.

Состояние слизистой полости рта по отношению к количеству грибковой микрофлоры расценивалось следующим образом: от 0 до 100 колониеобразующих единиц (КОЕ) – здоровая СОПР; от 101 до 1000 КОЕ – кандидоносительство; свыше 1000 КОЕ – кандидоз [3].

На фоне химиолучевого лечения больным назначалась стандартная профилактика и коррекция мукозита, которая включала полоскания полости рта раствором фурацилина и отварами лечебных трав, применение антибиотиков широкого спектра действия, противогрибковые препараты, анальгетики. В случае развития мукозита тяжелой степени, сопровождавшегося выраженной дисфагией, пациенты получали зондовое питание, при необходимости – инфузионную терапию. Коррекция возникающей на фоне мукозита нейтропении требовала в зависимости от степени тяжести применения колониестимулирующих факторов, назначения кортикостероидов, переливания свежезамороженной плазмы.

В соответствии с методами профилактики мукозита пациенты были разделены на четыре группы. В первой группе (27 пациентов) проводилась стандартная профилактика и коррекция мукозита. Во второй группе (12 человек) дополнительно назначали препарат «Иммунал», который содержит биологически активные вещества, действующие в качестве неспецифических стимуляторов и усиливающие естественные защитные силы организма. Повышая число гранулоцитов и активируя фагоцитоз, активные вещества препарата подавляют размножение микроорганизмов. Отмечается, что «Иммунал» действует как на центральное, так и на местное звено иммунитета.

В третьей группе пациенты (12 человек) на фоне стандартной профилактики осложнений с целью коррекции микробного ландшафта обрабатывали полость рта «Кандид-раствором». Активным веществом препарата является клотримазол – противогрибковый препарат широкого спектра действия. Безопасность препарата обеспечивается отсутствием системного действия, так как абсорбция его со слизистых оболочек составляет всего 0,3%. Специальная основа позволяет препарату «Кандид-раствор» максимально долго задерживаться именно на слизистой оболочке полости рта.

В четвертой группе (12 человек) профилактика мукозита включала прием «Иммунала» и обработку полости рта «Кандид-раствором».

Результаты исследования

Было проведено сравнение количественного и качественного состава грибов рода *Candida* в контрольной группе и у онкологических больных до начала лечения. В группе лиц без онкологической патологии у 5 человек (17,9%) были выявлены *C.albicans*, *C.crusei* и *C.guilliermondi*. У двух человек количество колониеобразующих единиц соответствовало диагнозу «кандидоносительство», у двух – диагнозу «кандидоз» и у одного – состоянию здоровой слизистой. При этом все пациенты, у которых количество высеваемых кандид

соответствовало диагнозу «кандидоз», были старше 65 лет и имели полные или частичные съемные протезы в полости рта. В группе лиц с онкологической патологией до начала лечения кандиды были выявлены у 17 пациентов, что составило 27% от общего количества. У 16 больных была высеяна *C. albicans*, у 1 – *C. crusei*. У 9 пациентов количество кандид было меньше 100 КОЕ, что соответствовало здоровой СОПР, у 6 больных состояние слизистой расценивалось, как кандидоносительство, и у двоих был поставлен диагноз «кандидоз».

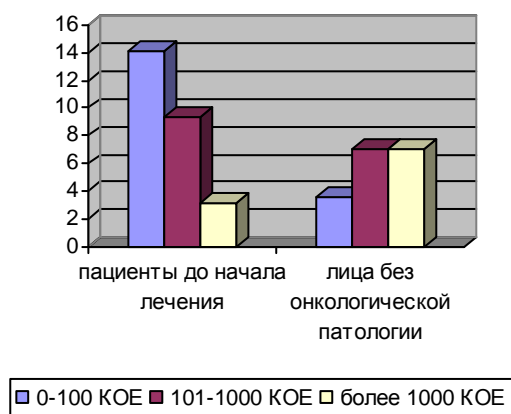


Рис. 1. Состояние грибковой микрофлоры полости рта у лиц контрольной группы и у пациентов до начала лечения

Перед началом лечения в группе стандартной профилактики мукозита *C. albicans* была выделена у семи пациентов (25,9%) из двадцати семи. В момент максимума клинических проявлений мукозита отмечалось изменение количественного и качественного состава кандид. Различные виды грибов были выявлены у двадцати четырех (88,9%) больных: *C. tropicalis* – у шести (22,2%), *C. albicans* – у пяти (18,5%), *C. pseudotropicalis* – у четырех (14,8%), *C. guilliermondii* – у двух (7,4%), *C. crusei* – у одного (3,7%) пациента. У трех (11,1%) пациентов произошло замещение ранее высеянных *C. albicans* на *C. tropicalis* и *C. pseudotropicalis*, в трех (11,1%) случаях было зафиксировано появление ассоциаций *C. tropicalis* и *C. albicans*, *C. albicans* + *C. pseudotropicalis* и *C. pseudotropicalis* + *C. guilliermondii*. У пациентов наблюдалось не только изменение качественного состава, но и значительное возрастание количества кандид в полости рта. До начала лечения у четырех пациентов была зафиксирована здоровая СОПР (от 60 до 90 КОЕ), а у трех – кандидоз (от 1900 до 3700 КОЕ). На пике развития осложнений у двух пациентов наблюдалось кандидоносительство (400 КОЕ), а у двадцати двух развился кандидоз (от 1700 до 6000 КОЕ). Количество грибковой микрофлоры в группе химиолучевой терапии до лечения и на максимуме клинических проявлений мукозита статистически достоверно различалось ($p = 0,03$).

Во второй группе, где в дополнение к стандартной профилактике осложнений в качестве профилактического средства применялся «Иммунал», грибы рода *Candida* высеивались до

лечения у 3 (25%) из 12 пациентов. После проведения химиолучевой терапии дрожжеподобные грибы были выявлены уже у 9 (75%) пациентов: у 5 больных (41,7%), с отсутствием высевов до лечения, после лечения стали выделяться *C.albicans*, у одного пациента (8,3%) – *C.guilliermondii*. У трех больных (25%) с первоначальными посевами *C.albicans* флора изменилась: у двух из них (16,6%) произошла замена *C. albicans* на *C.pseudotropicalis*, у одного (8,3%) возникла ассоциация *C.albicans* и *C.pseudotropicalis*. В двух случаях (16,6%) курс лечения не спровоцировал появления грибковой флоры на слизистой полости рта. До проведения химиолучевой терапии среди трех пациентов с положительными посевами со слизистой у одного была диагностирована здоровая СОПР (4 КОЕ), у второго – кандидоносительство (600 КОЕ) и одному был поставлен диагноз «Кандидоз» (1900 КОЕ). После проведения лечения у одного пациента количество колониеобразующих единиц соответствовало здоровой СОПР (4 КОЕ), у одного – кандидоносительству (670 КОЕ), а семи пациентам был поставлен диагноз «Кандидоз» (от 1100 до 4000 КОЕ). Различия количества грибов до и после лечения были статистически значимы ($p<0,01$). Различия между данной группой и группой стандартной профилактики в момент максимума развития мукозита отсутствовали ($p=0,07$). Таким образом, использование «Иммунала» в процессе химиолучевого лечения не оказало влияния на динамику грибковой микрофлоры по сравнению с группой, в которой проводилась стандартная профилактика кандидоза слизистой полости рта.

В группе применения в качестве профилактического средства кандид-раствора *C.albicans* до лечения была выделена у 3 (25,0%) пациентов. У одного из них (8,3%) количество кандид соответствовало здоровой СОПР, а у двух других (16,6%) превышало 1000 КОЕ/мл, что дало основания поставить диагноз «Кандидоз». После проведения химиолучевой терапии грибы рода *Candida* были выявлены у 4 человек (33,3%). *C.albicans* была обнаружена в двух случаях (16,6%) у тех же пациентов, что и до лечения. Еще у двух (16,6%) пациентов были выявлены *C.tropicalis* и *C.crusei*. В двух случаях из четырех (16,6%) было констатировано кандидоносительство (число КОЕ составило соответственно 200 и 420), у двух других пациентов был поставлен диагноз «кандидоз», так как количество КОЕ составило 1500 и 1200. Обращает внимание отсутствие ассоциаций различных видов дрожжевых грибов. Значимые различия по количеству кандид до лечения и в момент разгара клинических проявлений мукозита в данной группе отсутствовали ($p=0,08$), т.е. химиолучевое лечение не спровоцировало возрастания количества и изменений качественного состава грибов рода *Candida* слизистой оболочки полости рта. При сравнении количества грибковой микрофлоры в процессе химиолучевого лечения в данной группе с группой стандартной профилактики осложнений были выявлена статистически достоверная разница ($p=0,04$).

В четвертой группе профилактика осложнений лечения проводилась с использованием комплекса «иммунала + кандид-раствор». До лечения у 4 больных из 12 (33,3%) была выделена *C.albicans* в количестве, соответствующем здоровой СОПР у одного, кандидоносительству у двух и состоянию кандидоза у одного пациента. После подведения суммарно-очаговой дозы 36–38 Гр *C.albicans* высевалась только у двух пациентов (16,6%) в количестве, соответствующем состоянию здоровой СОПР. Необходимо отметить отсутствие изменения качественного состава грибов рода *Candida*, а также отсутствие ассоциаций. Статистически значимые различия между количеством кандид в начале курса лечения и после подведения СОД 36–38 Гр отсутствовали ($p=0,17$). Обращает внимание достоверное отличие между данной группой и группой стандартной профилактики в момент максимума клинических проявлений мукозита ($p = 0,03$).

Заключение

Наше исследование продемонстрировало, что у больных плоскоклеточным раком полости рта и глотки грибы рода *Candida* в полости рта обнаруживаются достоверно чаще и в большем количестве, чем в группе лиц, не имеющих онкологической патологии, что соответствует литературным данным [14, 19]. Этот факт, по всей видимости, отражает нарушения иммунной системы и защитного барьера слизистой оболочки полости рта, которые создают неблагоприятный фон для проведения лучевой и химиотерапии, провоцируя усиление тяжести реакций со стороны нормальных тканей в этой группе больных. В процессе химиолучевой терапии было отмечено статистически значимое возрастание количества, смена видов кандид и формирование их ассоциаций, что свидетельствовало о существенном влиянии противоопухолевого лечения на микрофлору полости рта. Очевидно, в процессе развития мукозита образуется порочный круг: воздействие ионизирующего излучения снижает колонизационную резистентность слизистой оболочки и способствует размножению кандид, а продукты клеточной стенки кандид служат дополнительным источником стресса для нормальных тканей, усиливая их радиационное повреждение. Полученные результаты подтверждают данные, представленные в работах [7, 8, 9].

Наше исследование ставило своей задачей изучить эффективность местного воздействия на грибковую микрофлору полости рта в сочетании с неспецифическим иммуностимулирующим воздействием на состояние микробного ландшафта у пациентов орофарингеальным раком в процессе химиолучевой терапии. Было показано, что самостоятельный прием иммунала не оказывает влияния на динамику микробного ландшафта полости рта. Очевидно, что ионизирующее излучение является экстремальным стрессорным воздействием, которое не может быть компенсировано улучшением состояния местного иммунитета полости рта. Обработка слизистой оболочки полости рта кандид-раствором вызвала статистически значимое уменьшение количества грибов в процессе лечения по сравнению с

группой стандартной профилактики мукозита. Наиболее эффективным для профилактики побочных эффектов химиолучевой терапии оказалось применение комплекса «Иммунал + кандид-раствор», которое позволило существенно уменьшить количество кандид полости рта по сравнению с контрольной группой. По всей видимости, именно совместное воздействие на центральное и местное звено развития мукозита привело к активации защитных механизмов и снижению частоты и тяжести лучевых реакций со стороны слизистой полости рта и глотки.

Список литературы

1. Гладкова Н.Д. Мукозит слизистой оболочки полости рта и глотки: патогенез, классификация, возможности коррекции / Н.Д. Гладкова [и др.] // Вопросы онкологии. – 2006. – № 4. – с. 379-384.
2. Зеленова Е.Г. Кандиды: экология, морфофункциональные особенности и факторы патогенности / Е.Г. Зеленова, М.И. Заславская, Т.В. Махрова // Нижегородский медицинский журнал. – 2003. – № 1. – С. 73–84.
3. Кашкин Н.П. Практическое руководство по медицинской микологии / Н.П. Кашкин, В.В. Лисин – Л.: Медицина, 1983. – 190 с.
4. Робустова Т.Г. Иммунная система региона зуба – зубочелюстного сегмента / Т.Г. Робустова [и др.] // Стоматология. – 1990. – № 4. – С. 88–91.
5. Anthony L. New thoughts on the pathobiology of regimen-related mucosal injury / Anthony L. // Support Care Cancer. – 2006. – V. 14. – P. 516–518.
6. Bourhis J. Accelerated versus Conventional Radiotherapy with Concomitant Chemotherapy in Locally Advanced Head and Neck Carcinomas: Results of a Phase III Randomized Trial / J. Bourhis, C. Sire, M. Lapeyre // International Journal of Radiation Oncology Biology Physics. – 2008. – V. 72. (Suppl. 1). – P. S31-S32.
7. Brown C.G., Wingard J. Clinical consequences of oral mucositis. Seminars Oncology Nurses / C.G. Brown, J. Wingard // 2004. – V. 20. – No 1. – P.16-21.
8. Chiappelli F. The molecular immunology of mucositis: implications for evidence-based research in alternative and complementary palliative treatments / F. Chiappelli // Evidence-based Complimentary and Alternative Medicine. – 2005. – V. 2. – P. 489–494.
9. Cox J.D. Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) / J.D.Cox, J. Stetz, T.F. Pajak // International Journal of Radiation Oncology Biology Physics. – 1995. – V. 31 – P. 1341–1346.
10. Elting L.S. Patient-reported measurements of oral mucositis in head and neck cancer patients treated with radiotherapy with or without chemotherapy: demonstration of increased frequency,

severity, resistance to palliation, and impact on quality of life / L.S. Elting, D.M. Keefe, S.T. Sonis // *Cancer*. – 2008. – V.113. – P. 2704-2713.

11. Oral candidiasis and oral mucositis in head and neck cancer patients receiving radiotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF) mouthwash / O. Nicolatou-Galitis [et al.] // *Radiotherapy & Oncology*. – 2000. – V. 57 (Suppl.1). – P. S42-S43.

12. Pignon J.P. Meta-analyses of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update / J.P. Pignon, A.L.L. Maitre, J. Bourhis // *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. – 2007. – V. 69 (Suppl. 2). – P. S112-S114.

13. Scully C. Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy, chemotherapy and radiochemotherapy. Part 2: Diagnosis and management of mucositis / C. Scully, J. Epstein, S. Sonis // *Head & Neck*. – 2004. – V. 26. – P. 77–84.

14. Silverman S. Jr. Occurrence of oral Candida in head and neck cancer patients / S. Jr. Silverman, L. Luangjarmekorn, D. Greenspan // *Journal of Oral Medicine* – 1984. – V. 39 – P. 194–196.

15. Ramirez-Amador V. Candidal colonization and oral candidiasis in patients undergoing oral and pharyngeal radiation therapy / V. Ramirez-Amador, S. Jr. Silverman, P. Mayer / *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontix*. – 1997. – V. 84. – P. 149–153.

16. Redding S. Candida dubliniensis in radiation-induced oropharyngeal candidiasis / S. Redding, C. Bailey, J. Lopez-Ribot // *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontix*. – 2001. – V. 91. – P. 659–662.

17. Redding S.W., Zellars R. C., Kirkpatrick W.R., Epidemiology of Oropharyngeal Candida Colonization and Infection in Patients Receiving Radiation for Head and Neck Cancer / S.W. Redding, R.C. Zellars, W.R. Kirkpatrick // *Journal of clinical microbiology*. – 1999. – V. 37. – No. 12. – P.3896–3900.

18. Trotti A. Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systemic literature review / A. Trotti, L.A. Bellm, J.B. Epstein // *Radiotherapy & Oncology*. – 2003. – V. 66. – P. 253–263.

19. Wingard J.R. Importance of Candida species other than C. albicans as pathogens on oncology patients / J. R. Wingard // *Clinical Infectious Diseases* – 1995. – V.20. – P.115-125.

Рецензенты:

Дурново Е.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, г. Нижний Новгород;

Казарина Л.Н., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтической стоматологии ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, г. Нижний Новгород.