

© Л. И. ЕГОРОВА, А. В. МАСЛЕННИКОВА, 2012  
 УДК 617.51/.53-006.6-085.277.3.015.2:615.849.1]-036.8-07:616.311-008.97

Л. И. Егорова, А. В. Масленникова

## ГРИБКОВАЯ МИКРОФЛОРА ПОЛОСТИ РТА У БОЛЬНЫХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ НА ФОНЕ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ

ГОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия (ректор — проф. Б. Е. Шахов) Минздравсоцразвития РФ

*Изучены особенности грибковой микрофлоры у 67 больных плоскоклеточным раком головы и шеи и у лиц без онкологического заболевания. Показано, что у пациентов с опухолями орофарингеальной зоны кандиды на слизистой оболочке полости рта обнаруживаются чаще и в большем количестве, чем у лиц без онкопатологии. Химиолучевая терапия вызывает статистически значимое возрастание количества кандид и изменения качественного состава грибковой микрофлоры полости рта пациентов. 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

ORAL FUNGAL MICROFLORA IN PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE HEAD AND NECK DURING CHEMORADIOTHERAPY

L. I. Egorova, A. V. Maslennikova

Nizhni Novgorod State Medical Academy, Ministry of Health and Social Development of Russia

*The oral fungal microflora was studied in 67 patients with squamous cell carcinoma of the head and neck and in people without cancer. In the patients with oropharyngeal tumors, Candida was shown to be encountered on the oral mucosa more frequently and in greater quantities than in the persons without cancer. Chemoradiotherapy causes a statistically significant increase in the Candida colonization index and changes in the qualitative composition of the oral fungal microflora. The coadministration of Candida solution and immunal can normalize the microbial landscape.*

Key words: squamous cell carcinoma of the head and neck, chemoradiotherapy, mucositis, prevention, Candida genus fungi, candidiasis

В течение последних 10 лет химиолучевая терапия стала стандартом лечения местно-распространенного плоскоклеточного рака головы и шеи [1, 2]. Ее применение позволило улучшить показатели выживаемости у этих пациентов, однако привело к существенному увеличению частоты и тяжести таких побочных эффектов, как мукозит и ксеростомия [3—5]. Эти осложнения вызывают выраженный болевой синдром, нарушения жевания и глотания и значительно ухудшают качество жизни пациентов [6]. Важную роль в развитии мукозита играют изменения нормальной микрофлоры полости рта, в частности, активация грибковой микрофлоры [7—9]. Микроорганизмы являются источником эндотоксинов, которые усиливают и расширяют локальное повреждение слизистой оболочки. Инфицирование ими слизистых оболочек происходит при нарушении баланса между механизмами очищения и колонизации, а иммунная система человека не в состоянии сдерживать атаку кандид [10].

В развитии мукозита несомненную роль играет нарушение механизмов местной иммунной защиты, которые имеют сложное строение и характеризуются взаимодействием разнообразных биологических механизмов [11]. Среди гуморальных факторов естественной резистентности наибольшее значение имеют лизоцим, лактоферрин, лактопероксидазы, муцин и другие компоненты, которые участвуют в уничтожении и ингибировании

микроорганизмов [12]. Развитие лучевого мукозита сопровождается нарушениями местного иммунитета [13, 14], однако исследования, направленные на его коррекцию, до настоящего времени не проводились.

**Целью** настоящего исследования было изучение особенностей грибковой микрофлоры полости рта у 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.

Грибковую микрофлору полости рта исследовали у 63 пациентов, находившихся на лечении в Нижегородском областном онкологическом диспансере, и у 28 добровольцев без онкологического заболевания. Критериями включения в исследование онкологических пациентов были гистологически подтвержденный плоскоклеточный рак полости рта и глотки III—IV стадии, отсутствие 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 балла по шкале ECOG, информированное согласие на проведение исследования. Большим проводили химиолучевую терапию по следующей схеме: один индукционный курс полихимиотерапии (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 оценивали по шкале RTOG/EORTC [15].

Лабораторные методы включали микроскопическое исследование соскоба со слизистой оболочки полости рта (СОПР) и культуральное исследование грибов рода

Для корреспонденции: Масленникова Анна Владимировна, д-р мед. наук, проф. каф. онкологии, 603005, Нижний Новгород, пл. Минина, 10/1, e-mail:maslennikova.anna@gmail.com

## Общие сведения о больных с учетом метода профилактики мукозита

Показатель	Стандартная профилактика		Иммунал		Кандид-раствор		Иммунал и кандидат-раствор		Итого	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Пол:										
м	24	88,9	11	91,7	12	100	10	83,3	57	90,5
ж	3	11,1	1	8,3	—	—	2	16,7	6	9,5
Возраст, годы:										
до 40	2	7,4	—	—	1	8,3	—	—	3	4,7
41—50	9	33,3	4	33,3	3	25	3	25	19	30,2
51—60	11	40,7	7	58,4	7	58,4	6	50	31	49,2
61—70	5	18,5	1	8,3	1	8,3	3	25	10	15,9
Стадия:										
III	16	59,3	7	58,3	8	75	5	41,6	36	57,1
IV	11	40,7	5	41,6	4	33,3	7	58,4	27	42,9
Локализация:										
полость рта	18	66,7	7	58,4	5	41,6	6	50	34	54
глотка	9	33,3	5	41,6	7	58,4	6	50	29	46
Гистологическое строение:										
ороговевающий рак	24	88,9	11	91,7	11	91,7	10	83,3	56	88,9
неороговевающий рак	3	11,1	1	8,3	—	—	2	16,7	6	9,5
недифференцированный рак	—	—	—	—	1	8,3	—	—	1	1,6
Всего...	27	100	12	100	12	100	12	100	63	100

Candida. Культуральное исследование проводили для идентификации вида гриба и количественного определения обсемененности дрожжевой флорой СОПР по методике, определенной в приказе Минздрава СССР № 535 от 22.04.1985 [16]. 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.

СОПР в зависимости от количества грибковой микрофлоры расценивали следующим образом: от 0 до 100

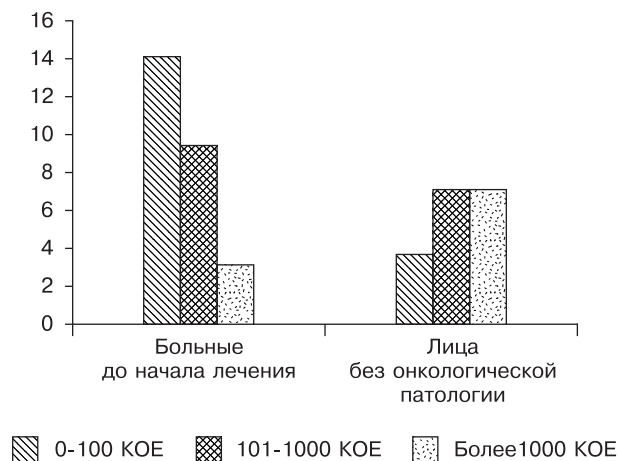


Рис. 1. Состояние грибковой микрофлоры полости рта у лиц без онкологической патологии и у больных до начала лечения.

колониеобразующих единиц (КОЕ) — здоровая СОПР, от 101 до 1000 КОЕ — кандидоносительство, более 1000 КОЕ — кандидоз [17].

На фоне химиолучевого лечения больным назначали стандартную профилактику и коррекцию мукозита, которая включала полоскание полости рта раствором фурациллина 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 свежзамороженной плазмы.

В соответствии с методами профилактики мукозита больные были разделены на 4 группы. В 1-й группе (27 человек) проводили стандартную профилактику и коррекцию мукозита. Во 2-й группе (12 человек) дополнительно назначали препарат иммунал, который содержит биологически активные вещества, действующие в качестве неспецифических стимуляторов и усиливающие естественные защитные силы организма. Повышая количество гранулоцитов и активируя фагоцитоз, активные вещества препарата подавляют размножение микроорганизмов. Отмечается, что иммунал действует как на центральное звено иммунитета, так и на местное.

В 3-й группе (12 человек) на фоне стандартной профилактики осложненных с целью коррекции микробного ландшафта обрабатывали полость рта кандидат-раствором, активным веществом которого является клотримазол.

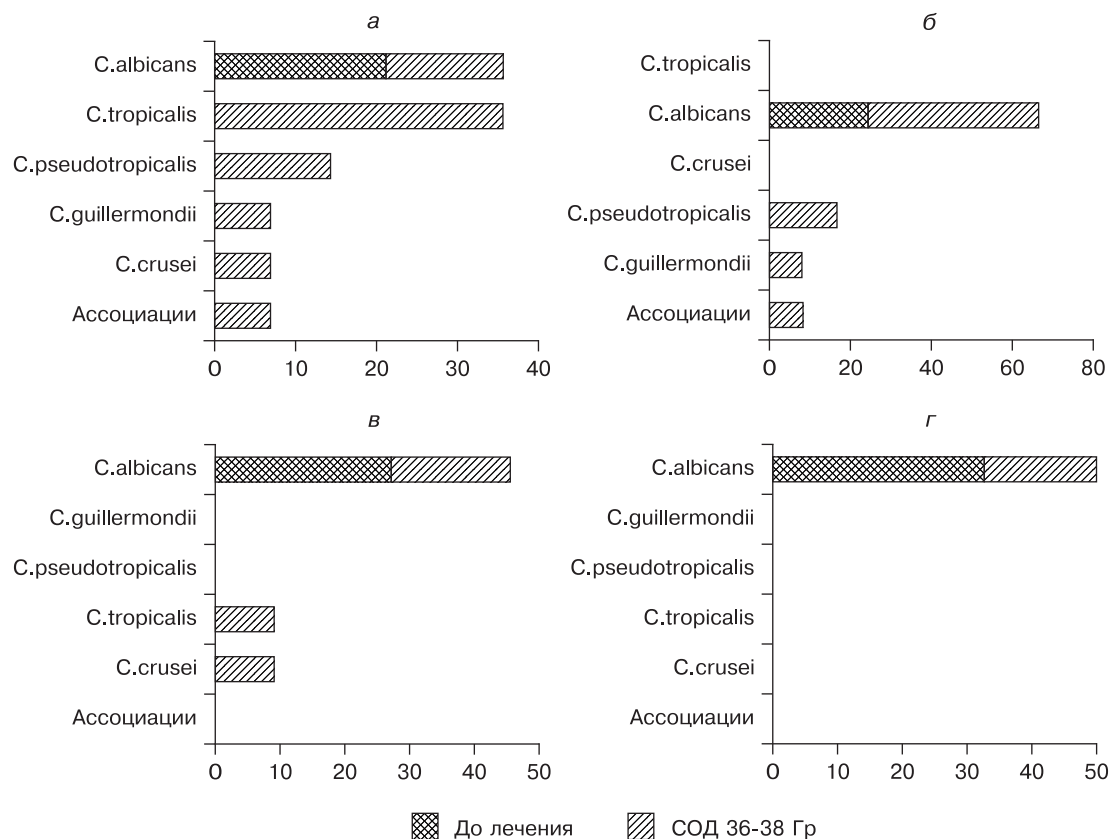


Рис. 2. Динамика грибковой микрофлоры полости рта больных в процессе лечения.

а — стандартная профилактика мукозита; б — профилактика иммуналом; в — профилактика кандид-раствором; г — профилактика иммуналом и кандид-раствором.

зол — 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 кандид-раствору максимально долго задерживаться именно на СОПР.

В 4-й группе (12 человек) профилактика мукозита включала прием иммунала и обработку полости рта кандид-раствором. Общие сведения о пациентах в зависимости от метода профилактики мукозита представлены в таблице.

Проведено сравнение количественного и качественного состава грибов рода *Candida* в контрольной группе и у онкологических больных до начала лечения (рис. 1).

В контрольной группе у 5 (17,9%) человек были выявлены *C. albicans*, *C. crusei* и *C. guilliermondii*. У двух человек количество КОЕ соответствовало кандидоносительству, у двух — кандидозу и у одного — состоянию здоровой СОПР. При этом все пациенты, у которых количество высеваемых кандид соответствовало кандидозу, 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 (27%) больных. У 16 больных была высеяна *C. albicans*, у одного — *C. crusei*. У 9 больных количество кандид было меньше 100 КОЕ, что соответствовало здоровой СОПР, у 6 больных состояние слизистой расценивалось как кандидоносительство и у двух — как кандидоз (см. рис. 1).

Перед началом лечения в группе стандартной профилактики мукозита *C. albicans* была выделена у 7 (25,9%)

больных из 27. В момент максимума клинических проявлений мукозита отмечалось изменение количественного и качественного состава кандид (рис. 2, а). Различные виды грибов были выявлены у 24 (88,9%) больных; *C. tropicalis* — у 6 (22,2%), *C. albicans* — у 5 (18,5%), *C. pseudotropicalis* — у 4 (14,8%), *C. guilliermondii* — у 2 (7,4%), *C. crusei* — у 1 (3,7%) больного. У 3 (11,1%) больных произошло замещение ранее высеванных *C. albicans* на *C. tropicalis* и *C. pseudotropicalis*, у 3 (11,1%) было зафиксировано появление ассоциаций *C. tropicalis* и *C. albicans*, *C. albicans* + *C. pseudotropicalis* и *C. pseudotropicalis* + *C. guilliermondii*. У больных наблюдалось не только изменение качественного состава, но и значительное возрастание количества кандид в полости рта (рис. 3, а). До начала лечения у четырех больных 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 22 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 2-й группе, где в дополнение к стандартной профилактике осложнений в качестве профилактического средства применяли иммунал, грибы рода *Candida* высевались до лечения у 3 (25%) из 12 больных. После проведения химиолучевой терапии дрожжеподобные грибы были выявлены уже у 9 (75%) больных: у 5 (41,7%) с отсутствием высева до лечения, после лечения выделили *C. albicans*, у 1 (8,3%) — *C. guilliermondii*. У 3 (25%)

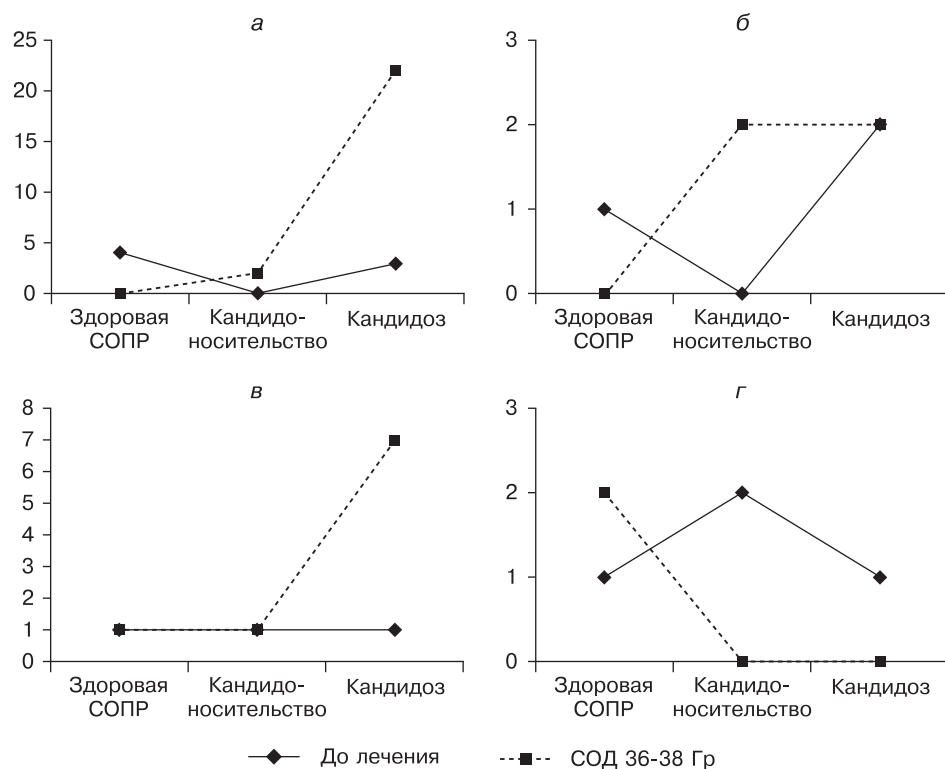


Рис. 3. Колонизационная активность грибов рода *Candida* в процессе химиолучевого лечения. а — стандартная профилактика мукозита; б — профилактика иммуналом; в — профилактика кандид-раствором; г — профилактика иммуналом и кандид-раствором.

больных с первоначальными высевами *C. albicans* флора изменилась: у 2 (16,6%) из них произошла замена *C. albicans* на *C. pseudotropicalis*, у 1 (8,3%) возникла ассоциация *C. albicans* и *C. pseudotropicalis*. В 2 (16,6%) случаях курс лечения не спровоцировал появления грибковой флоры на СОПР (рис. 2, б). До проведения химиолучевой терапии из трех больных с положительными посевами со слизистой оболочки у одного была диагностирована здоровая СОПР (4 КОЕ), у второго — кандидоносительство (600 КОЕ), у третьего — кандидоз (1900 КОЕ). После проведения лечения у одного больного количество КОЕ соответствовало здоровой СОПР (4 КОЕ), у одного — кандидоносительству (670 КОЕ), а у семи — кандидозу (от 1100 до 4000 КОЕ; рис. 3, б). 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.

В 3-й группе, где в качестве профилактического средства применяли кандид-раствор, *C. albicans* до лечения была выделена у 3 (25,0%) больных. У 1 (8,3%) из них количество кандид соответствовало здоровой СОПР, а у 2 (16,6%) превышало 1000 КОЕ/мл, что дало основание диагностировать кандидоз. После проведения химиолучевой терапии грибы рода *Candida* были выявлены у 4 (33,3%) больных. *C. albicans* была обнаружена у тех же 2 (16,6%) больных, что и до лечения. Еще у 2 (16,6%) пациентов были выявлены *C. tropicalis* и *C. glabrata* (рис. 2, в). У 2 (16,6%) больных из 4 было констатировано кандидоносительство (число КОЕ составило соответственно 200 и 420), у двух других выявлен кандидоз — количество КОЕ составило 1500 и 1200 (рис. 3, в). Отмечено

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 увеличения количества и изменений качественного состава грибов рода *Candida* СОПР. При сравнении количества грибковой микрофлоры в процессе химиолучевого лечения в данной группе и в группе стандартной профилактики осложнений было выявлено статистически достоверное различие ( $p = 0,04$ ).

В 4-й группе профилактика осложнений лечения проводилась с использованием комплекса иммунал + кандид-раствор. До лечения у 4 (33,3%) больных из 12 была выделена *C. albicans* в количестве, соответствующем здоровой СОПР у одного, кандидоносительству у двух и кандидозу — у одного пациента. После подведения СОД 36—38 Гр *C. albicans* высевалась только у 2 (16,6%) больных в количестве, соответствующем состоянию

здоровой СОПР. Следует отметить отсутствие изменения качественного состава грибов рода *Candida*, а также отсутствие ассоциаций (рис. 2, г). Статистически значимые различия между количеством кандид в начале курса лечения и после подведения СОД 36—38 Гр отсутствовали ( $p = 0,17$ ). Отмечено достоверное различие между данной группой и группой стандартной профилактики в момент максимума клинических проявлений мукозита ( $p = 0,03$ ).

Настоящее исследование показало, что у больных плоскоклеточным раком СОПР и глотки грибы рода *Candida* с полости рта обнаруживаются достоверно чаще и в большем количестве, чем у лиц без онкологической патологии, что соответствует данным литературы [18, 19]. Этот факт, по всей видимости, отражает нарушения иммунной системы и защитного барьера СОПР, которые создают неблагоприятный фон для проведения лучевого лечения и химиотерапии, провоцируя усиление тяжести реакций нормальных тканей в этой группе больных. В процессе химиолучевой терапии было отмечено статистически значимое возрастание количества кандид, 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 [7—9, 24].

Поскольку в патогенезе лучевого повреждения нормальной слизистой оболочки патогенная микрофлора играет важную роль, многократно предпринимались попытки снизить частоту и тяжесть мукозита путем

местного применения антибактериальных препаратов. Полученные результаты являются неоднозначными и в достаточной мере противоречивыми. Так, использование в качестве профилактического средства природного пептида протеогрина, обладающего антибактериальными свойствами, дало отрицательные результаты [21]. Местное применение растворов, содержащих гентамицин и клотримазол, не уменьшило частоту и тяжесть мукозита у больных, получающих лучевую терапию [22]. В клинических исследованиях, в которых в качестве местных профилактических средств использовались полимиксин Е, тобрамицин и противогрибковый препарат амфотерицин В, наблюдалось статистически значимое уменьшение количества кандид в полости рта по сравнению с таковыми в контрольной группе и улучшение качества жизни больных [23, 24].

Настоящее исследование показало, 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 СОПР кандидат-раствором вызвала статистически значимое уменьшение количества грибов в процессе лечения по сравнению с таковым в группе стандартной профилактики мукозита. Наиболее эффективным для профилактики побочных эффектов химиолучевой терапии оказалось совместное применение иммунала и кандидат-раствора, которое позволило существенно уменьшить количество кандид в полости рта по сравнению с таковым в контрольной группе. По всей видимости, именно совместное воздействие на центральное и местное звено развития мукозита приводит к активации защитных механизмов и снижению частоты и тяжести лучевых реакций СОПР и глотки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Pignon J. P., Maitre A. L. L., Bourhis J. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2007. — Vol. 69 (Suppl. 2). — P. S112—S114.
2. Bourhis J., Sire C., Lapeyre M. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2008. — Vol. 72 (Suppl. 1). — P. S31—S32.
3. Trotti A., Bellm L. A., Epstein J. B. et al. // *Radiother. Oncol.* — 2003. — Vol. 66. — P. 253—263.
4. Scully C., Epstein J., Sonis S. // *Head Neck.* — 2004. — Vol. 26. — P. 77—84.
5. Гладкова Н. Д., Масленникова А. В., Балалаева И. В. и др. // *Вопр. онкол.* — 2006. — № 4. — С. 379—384.
6. Elting L. S., Keefe D. M., Sonis S. T. // *Cancer.* — 2008. — Vol. 113. — P. 2704—2713.
7. Ramirez-Amador V., Silverman S. Jr., Mayer P. et al. // *Oral Surg.* — 1997. — Vol. 84. — P. 149—153.
8. Redding S., Bailey C., Lopez-Ribot J. et al. // *Oral Surg.* — 2001. — Vol. 91. — P. 659—662.
9. Redding S. W., Zellars R. C., Kirkpatrick W. R. // *J. Clin. Microbiol.* — 1999. — Vol. 37, N 12. — P. 3896—3900.
10. Зеленова Е. Г., Заславская М. И., Махрова Т. В. // *Нижегород. мед. журн.* — 2003. — № 1. — С. 73—84.
11. Brown C. G., Wingard J. // *Semin. Oncol. Nurs.* — 2004. — Vol. 20, N 1. — P. 16—21.
12. Робустова Т. Г., Лебедев К. А., Понякина И. Д. и др. // *Стоматология.* — 1990. — № 4. — С. 88—91.
13. Chiappelli F. // *Evidence-based Complement. Alternative Med.* — 2005. — Vol. 2. — P. 489—494.
14. Anthony L., Bowen J., Garden A. et al. // *Support Care Cancer.* — 2006. — Vol. 14. — P. 516—518.
15. Cox J. D., Stetz J., Pajak T. F. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 1995. — Vol. 31. — P. 1341—1346.
16. Приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.85 "Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений". — М., 1985. — С. 25—26.
17. Кашкин Н. П., Лисин В. В. *Практическое руководство по медицинской микологии.* — Л., 1983.
18. Silverman S. Jr., Luangjarmekorn L., Greenspan D. // *J. Oral Med.* — 1984. — Vol. 39. — P. 194—196.
19. Wingard J. R. // *Clin. Infect. Dis.* — 1995. — Vol. 20. — P. 115—125.
20. Nicolatou-Galitis O., Dardoufas K., Sotiropoulou-Lontou A. et al. // *Radiother. Oncol.* — 2000. — Vol. 57 (Suppl. 1). — P. S42—S43.
21. Chen J., Falla T. J., Liu H. et al. // *Biopolymers.* — 2000. — Vol. 55. — P. 88—98.
22. Okuno S. N., Foote R. L., Loprinzi C. L. et al. // *Cancer.* — 1997. — Vol. 79. — P. 2193—2199.
23. Wijers O. B., Levendag P. C., Harms E. R. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2001. — Vol. 50. — P. 343—352.
24. Stokman M. A., Spijkervet F. K. L., Burlage F. R. et al. // *Br. J. Cancer.* — 2003. — Vol. 88, N 7. — P. 1012—1016.

Поступила 14.04.10