

© Геращенко С.Б., Дельцова О.І., Гвоздик І.М., 2010

УДК 615.277.3+612.014.46+616.316+543.544.942.2

## ТОКСИЧНА ДІЯ ЦИСПЛАТИНУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ ЕНТЕРОСГЕЛЕМ

С.Б.Геращенко, О.І.Дельцова, І.М.Гвоздик

Кафедра гістології, цитології та ембріології (зав. – проф. С.Б.Геращенко) Івано-Франківського національного медичного університету

**Резюме.** В експерименті на 45 білих щурах гістологічними і морфометричними методами (термін досліду – 28 днів після припинення введення цисплатину) виявляються виражені ознаки пошкодження слизової оболонки (СО) ротової порожнини до 14-ї доби. Від 14-ї до 21-ї доби одночасно з відновленням морфометричних показників в епітелію зростають прояви вакуольної та балонної дистрофії, зберігаються ознаки гіперкератозу. Корекція ентеросгелем виявила на 21-28 доби поліпшення морфофункціонального стану СО ротової порожнини, зменшення набряку власної пластинки, стабілізацію показників епітелію.

**Ключові слова:** слизова оболонка, ротова порожнина, цисплатин, ентеросгель.

Протипухлинна терапія часто призводить до пошкодження нормальних клітин. У літературі є повідомлення про те, що оральні мукозити є одними з найчастіших внаслідок побічної дії цисплатину в антінеобластомній терапії [1, 2]. Частота мукозитів коливається від 8 до 62 % з різним ступенем тяжкості – від першої до третьої при лікуванні хворих із злоякісними пухлинами легень, яєчка, неходжкінської лімфоми тощо [3-6]. Дослідники вказують на часті випадки пошкодження слинних залоз та ксеростомії [7, 8]. При вивченні впливу цисплатину на ясна в експерименті виявлені виразкові ураження слизової оболонки (СО) і зроблена спроба місцевого лікування у вигляді аплікацій фактора росту фібробластів та епідермального фактора росту [9].

**Мета дослідження.** Вивчити морфофункціональний стан СО ротової порожнини за умов дії цисплатину та його корекції в експерименті.

**Матеріал і методи.** Цисплатин (Цисплатин КМП, № Р.09.03/07324) вводили 25 білим дорослим щурам (І група) внутрішньоочеревинно в дозі 2 мг/кг один раз на тиждень протягом 9 тижнів. Ентеросгель (№ UA/4415/01/01, "Екологоохоронна фірма Креома-фарм") отримували 20 тварин (ІІ група) по 1,5 мл 50 % водного розчину гідрогелю метилкремнієвої кислоти (0,7 г діючої речовини) протягом 14 днів після останнього введення цисплатину. Контролем були 10 інтактних тварин. Матеріал забирали на 3-тю, 7-му, 14-ту, 21-шу та 28-му доби

після останнього введення цисплатину.

Утримання тварин та маніпуляції проводили відповідно до "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Київ, 2001) та "Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин (Наказ МОЗ України № 755, 1977 р.). Тварин виводили з експерименту методом передозування ефірного наркозу, для патогістологічного дослідження забирали шматочки СО ротової порожнини. Матеріал фіксували в 10 % розчині формаліну. Зрізи фарбували гематоксилином і еозином. Мікропрепарати піддавали гістологічному та морфометричному аналізу. Морфометричне дослідження проводили на мікропрепаратах СО ротової порожнини з використанням окуляр-мікрометра МОВ-1-15х. Вимірювали товщину епітелію, його камбіального (базального та остистого), поверхневого та рогового шарів. Визначали співвідношення між камбіальним і поверхневим шарами та мітотичний індекс. Обробку одержаних даних проводили варіаційно-статистичними методами з використанням персонального комп'ютера і програмного забезпечення "Statistica" та "Excel".

**Результати дослідження та їх обговорення.** На 3-тню добу власна пластинка СО ротової порожнини у стані набряку, утворює глибокі інвагінації в епітеліальну пластинку. У сполучній тканині спостерігаються пучки колагенових волокон. У дрібних судинах просвіти розширені, в

артеріях м'язового типу стінка набрякла, рельєф внутрішньої оболонки згладжений. Базальний шар епітелію містить клітини з округлими ядрами. Серед них трапляються базальні епітеліоцити з пікнотичними ядрами та ядрами паличкоподібної форми. Клітин з мітотичними фігурами в ядрах не спостерігається. Остистий шар вузький. Здебільшого епітеліоцити цього шару мають великі світлі ядра, в яких різко виражена оболонка ядра. У цитоплазмі клітин поверхневого шару часто виявляються скупчення кератинових гранул різного розміру, які цілком заповнюють клітини. Цей шар переходить у зроговілу смужку, яка місцями має вигляд окремих пластинок, що дотикаються до поверхневого шару або відокремлені від нього, в інших – як розпушений еозинофільний матеріал. Морфометрично епітелій характеризується стоншенням –  $48,7 \pm 0,5$  мкм (у контролі –  $71,5 \pm 1,4$  мкм),  $p < 0,05$ ; товщина камбіального шару зменшується до  $29,3 \pm 0,4$  мкм (у контролі –  $45,2 \pm 0,7$  мкм),  $p < 0,05$ ; співвідношення між ними досягає  $1,5 \pm 0,2$  (у контролі –  $1,7 \pm 0,1$ ),  $p < 0,05$ ; рогова смужка потовщується до  $7,3 \pm 0,1$  мкм (у контролі –  $6,6 \pm 0,2$  мкм),  $p < 0,05$ ; тобто спостерігається гіперкератоз.

На 7-му добу в базальних епітеліоцитах визначаються фігури мітозу. Ядра епітеліоцитів округлої форми. Через виражену проліферацію утворюється кілька шарів базальних клітин. У ділянках сосочків епітелій стоншений, в інших – потовщений за рахунок розширеного остистого шару. Епітеліоцити цього шару містять ядра різного розміру і форми – від округлої до неправильної. Товщина камбіального шару становить  $51,2 \pm 0,6$  мкм і є більшою від попереднього терміну та контролю ( $p < 0,05$ ). По мірі диференціювання епітеліоцитів від базальних до поверхневих у них виявляються скупчення гранул кератогіаліну. У багатьох клітинах ядра не ідентифікуються. Поверхневий шар також потовщується (до  $35,6 \pm 0,7$  мкм;  $p < 0,05$ ). Зроговіла смужка найтовстіша серед всіх термінів дослідження ( $12,4 \pm 0,3$  мкм,  $p < 0,05$ ), містить пластинки з рогових лусочок, які нещільно примикають одна до другої.

На 14-ту добу у власній пластинці СО ротової порожнини набряк зберігається, у ній виявляються пучки колагенових волокон, фіброласти та поодинокі гладенькі міоцити, сосочки не виражені. Епітелій нерівномірно вкритий

розпушеною смужкою зі зроговілих епітеліоцитів, яка має товщину  $9,3 \pm 0,2$  мкм ( $p < 0,05$ ). Кератиноцити заповнені численними гранулами кератогіаліну різних розмірів. В ядрах базального шару – фігури мітозу. Інколи трапляються ядра неправильної форми у стані каріопікнозу. Виявляється проліферація клітин базального шару з його потовщенням. Ядра епітеліоцитів остистого шару великі, світлі, округлі, часто з ядерцем. Товщина камбіального шару зростає до  $54,6 \pm 0,5$  мкм ( $p < 0,05$ ). Кератогіалінові гранули з'являються в молодих епітеліоцитах і їхня кількість у клітинах збільшується в міру їх диференціювання. Трапляються ділянки міжклітинного набряку. Загалом, епітелій потовщується до  $96,7 \pm 0,5$  мкм ( $p < 0,05$ ). Водночас до цього терміну триває зменшення співвідношення між камбіальним та поверхневим шарами: 7-ма доба –  $1,4 \pm 0,03$ , 14-та доба –  $1,3 \pm 0,01$  ( $p < 0,05$ ). Це свідчить про активні проліферативні процеси в базальному та остистому шарах до 14-ї доби. Мітотичний індекс на 7-му добу становить  $7,04 \pm 0,2$  ‰,  $p < 0,05$ ; на 14-ту –  $25,2 \pm 0,2$  ‰,  $p < 0,05$  (у контролі –  $8,02 \pm 0,2$  ‰).

На 21-шу добу власна пластинка СО зберігає морфологічну картину попереднього терміну експерименту. Епітелій нерівномірно вкритий смужкою з кератиноцитів, її товщина зменшується до  $8,9 \pm 0,1$  мкм ( $p < 0,05$ ). Кератиноцити заповнені численними гранулами кератогіаліну з переважанням великих гранул. В ядрах базального шару – фігури мітозу, мітотичний індекс становить  $19,04 \pm 0,2$  ‰ ( $p < 0,05$ ). В епітеліоцитах остистого шару з'являються великі кератогіалінові гранули. Більш вираженими стають прояви спонгіозу. У цьому і в поверхневому шарі визначаються набряклі епітеліоцити, вакуолі різко зміщують ядро вбік. Часто в епітеліоцитах присутня велика гранула кератогіаліну на фоні вакуольної дистрофії. У таких епітеліоцитах ядро змінює форму і стає переважно сплосченим. Від попереднього терміну (14 діб) поступово зменшується товщина камбіального ( $48,4 \pm 0,4$  мкм,  $p > 0,05$ ), поверхневого ( $33,5 \pm 0,4$  мкм,  $p < 0,05$ ) шарів та епітелію в цілому (до  $82,03 \pm 0,5$  мкм,  $p < 0,05$ ).

У власній пластинці СО ротової порожнини на 28-му добу колагенових волокон стає більше. Серед них розміщуються численні фіброласти. Кровоносні судини мають нормальний просвіт, але спостерігається набряк навко-

ло них. Сосочки мілкі. У базальному шарі епітелію зберігаються прояви проліферації клітин. Кількість мітозів зменшується, але мітотичний індекс зберігається великим ( $19,02 \pm 0,2 \text{ ‰}$ ,  $p < 0,05$ ). Шар остистих клітин неширокий. У цьому шарі трапляються епітеліоцити з набряклою цитоплазмою, часті прояви вакуольної дистрофії. Товщина цих шарів становить  $46,5 \pm 0,3 \text{ мкм}$  ( $p > 0,05$ ). У поверхневому шарі серед клітин з кератогіаліном досить велика кількість зморщених епітеліоцитів, оточених прозорою облямівкою, що кваліфікується як балонна дистрофія. Його товщина велика ( $30,8 \pm 0,3 \text{ мкм}$ ,  $p < 0,05$ ). Рогова смужка стоншується до  $8,3 \pm 0,1 \text{ мкм}$  ( $p < 0,05$ ).

На 3-тню добу корекції ентеросгелем у власній пластинці СО морфологічна і морфометрична картини мало чим відрізняються від такої без корекції, за винятком збільшення мітотичного індексу (до  $16,0 \pm 0,2 \text{ ‰}$ ,  $p < 0,05$ ). На 7-му добу в базальних епітеліоцитах ідентифікуються фігури мітозу. Через проліферацію базальних клітин їх є кілька шарів. Епітеліоцити остистого шару містять ядра різного розміру і форми, акантоз відсутній. У поверхневому шарі ядра в клітинах нечисленні. Під зроговілим шаром подекуди трапляються епітеліоцити з ядрами (паракератоз). Прояви гіперкератозу зменшуються. Зроговілий шар містить пластинки з рогових лусочок, які нещільно примикають одна до другої, між ними спостерігаються щільні простори. Настало потовщення камбіального і поверхневого шарів до  $49,6 \pm 0,3$  та  $32,1 \pm 0,5 \text{ мкм}$  ( $p < 0,05$ ) відповідно; товщина епітелію досягла  $80,7 \pm 1,04 \text{ мкм}$  ( $p < 0,05$ ). Ці показники менші від таких у той самий термін без корекції ентеросгелем. Співвідношення між камбіальним і поверхневим шарами незначно змінюється від попереднього терміну, а товщина рогової смужки зростає до  $7,7 \pm 0,1 \text{ мкм}$  ( $p < 0,05$  відносно контролю,  $p > 0,05$  відносно 3-ї доби досліджу). Мітотичний індекс від 3-ї доби зменшується до  $14,0 \pm 0,2 \text{ ‰}$  ( $p > 0,05$ ).

На 14-ту добу корекції ентеросгелем морфологічна картина поліпшилася порівняно з таким самим терміном без корекції. У власній пластинці СО пухка волокниста сполучна тканина має типову будову з остаточними ознаками набряку, сосочки не виражені. Епітелій нерівномірно вкритий смужкою зі зроговілих епітеліоцитів, часто ідентифікується її розпушен-

ня. Прояви гіперкератозу незначні. Товщина рогової смужки ( $6,9 \pm 0,1 \text{ мкм}$ ;  $p > 0,05$  відносно контролю) наближається до показників контролю. Кератиноцити заповнені великими гранулами кератогіаліну різних розмірів, але їх кількість значно менша від такого самого терміну без корекції. В ядрах базального шару – фігури мітозу. Форма ядер округла. Ядер неправильної форми у стані каріопікнозу не спостерігалось. Ядра епітеліоцитів остистого шару великі, світлі, округлі, часто з ядрцем. Кератогіалінові гранули в них практично відсутні. Трапляються обмежені ділянки спонгіозу. Спостерігається стоншення камбіального шару, тоді як поверхневий розширений. Товщина епітелію зменшується, співвідношення між камбіальним і поверхневим шарами та мітотичний індекс визначаються в межах попереднього терміну досліджу.

На 21-шу добу триває поліпшення морфологічного стану СО ротової порожнини, що виражається зменшенням набряку власної пластинки і стабілізацією показників епітелію. В окремих епітеліоцитах зберігаються прояви вакуольної дистрофії, а гіперкератоз переходить у помірно виражену форму (Е.В.Боровський, 1991).

На 28-му добу у власній пластинці СО колагенових волокон стало більше. Кровоносні судини без відхилень від контролю. У базальному шарі прояви проліферації клітин зменшилися, кількість мітозів наблизилася до контролю. Шар остистих клітин неширокий, їхні ядра великі, в них ідентифікуються 1-2 ядерця. У цьому шарі трапляються епітеліоцити з набряклою цитоплазмою. Проявів вакуольної і балонної дистрофії не спостерігається. У поверхневому шарі – прояви паракератозу. Рогова смужка стоншилася порівняно з попереднім терміном досліджу. Морфометричні параметри епітелію максимально наблизилася до нормальних: товщина епітелію стала  $74,7 \pm 0,5 \text{ мкм}$  ( $p > 0,05$ ); товщина камбіального шару і поверхневого шарів –  $46,3 \pm 0,1$  ( $p > 0,05$ ) і  $28,2 \pm 0,4 \text{ мкм}$  ( $p > 0,05$ ) відповідно; співвідношення між камбіальним і поверхневим шарами досягло  $1,6 \pm 0,03$  ( $p > 0,05$ ); товщина рогової смужки –  $7,2 \pm 0,2 \text{ мкм}$  ( $p > 0,05$ ); мітотичний індекс –  $12,03 \pm 0,2 \text{ ‰}$  ( $p < 0,05$ ).

**Висновки.** 1. Виразені ознаки пошкодження слизової оболонки (СО) ротової порожнини у динаміці експерименту виявляються протягом 14 діб після припинення введення

цисплатину. Від 14-ї до 21-ї доби одночасно з відновленням морфометричних показників в епітелії зростають прояви вакуольної та балонної дистрофії, тоді як ознаки гіперкератозу зберігаються. 2. Корекція ентеросгелем виявила до 21-28 днів поліпшення морфофункціонального стану СО ротової порожнини, зменшення набряку власної пластинки, стабіліза-

цію показників епітелію. В окремих епітеліоцитах зберігаються прояви вакуольної дистрофії, а гіперкератоз зменшується.

**Перспективи наукового пошуку** пов'язані з визначенням можливостей та розробкою схем лікування токсичних цисплатин-індукованих мукозитів ротової порожнини для поліпшення якості життя онкохворих.

### Література

1. *Epidemiology of treatment-associated mucosal injury after treatment with newer regimens for lymphoma, breast, lung, or colorectal cancer* // J.A.Jones, E.B.Avritscher, C.D.Cooksley [et al.] // *Support Care Cancer*. – 2006. – Vol. 14, № 6. – P. 505-515.
2. *Weekly cisplatin, epirubicin, and paclitaxel with granulocyte colony-stimulating factor support vs tri-weekly epirubicin and paclitaxel in locally advanced breast cancer: final analysis of a sicog phase III study* / G.Frasci, G.D'Aiuto, P.Comella [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2006. – Vol. 95, № 8. – P. 1005-1012.
3. *A phase II trial of doxorubicin and onterferon alpha 2b in advanced, non-medullary thyroid cabncer* / A.Argiris, S.S.Agarwala, M,V.Karamouzis [et al.] // *Invest. New Drugs*. – 2008. – Vol. 26, № 2. – P. 183-188.
4. *Markman M. Toxicities of the platinum antineoplastic agents* / M.Markman // *Expert. Opin. Drug Saf.* – 2003. – Vol. 2, № 6. – P. 597-607.
5. *Sastry J. Severe neurotoxicity, ototoxicity and nephrotoxicity following high-dose cisplatin and amifostine* // J.Sastry, S.J.Kellie // *Pediatr. Hematol. Oncol.* – 2005. – Vol. 22, № 5. – P. 441-445.
6. *The impact of concurrent granulocyte macrophage-colony stimulating factor on radiation-induced mucositis in head and neck cancer patients: a double-blind placebo-controlled prospective phase III study by Radiation Therapy Oncology Group 9901* / J.K.Ryu, S.Swann, F.LeVeque [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2007. – Vol. 67, № 3. – P. 643-650.
7. *IMRT with the use of simultaneous integrated boost in treatment of head and neck cancer: acutye toxicity evaluation* / M.Vosmik, K.Odrzaska, M.Dolezel [et al.] // *Acta Medica (Hradec Kralove)*. – 2006. – Vol. 49, № 3. – P. 167-173.
8. *Relationship between clinical factors and the incidence of toxicity after intra-arterial chemoradiation for head and neck cancer* // G.B. van den Broek, A.J.Balm, M.W. van den Brekel [et al.] // *Radiother. Oncol.* – 2006. – Vol. 81, № 2. – P. 143-150.
9. *Fujisawa K. Basic fibroblast growth factor and epidermal growth factor reverse impaired ulcer healing of the rabbit oral mucosa* / K.Fujisawa // *J. Oral Pathol. Med.* – 2003. – Vol. 32, № 6. – P. 358-366.

### ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЦИСПЛАТИНА НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ЭНТЕРОСГЕЛЕМ

**Резюме.** В эксперименте на 45 белых крысах гистологическими и морфометрическими методами (срок опыта – 28 суток после прекращения введения цисплатина) выявляются выраженные признаки повреждения слизистой оболочки (СО) ротовой полости до 14 суток. От 14 до 21 суток одновременно с восстановлением морфометрических показателей в эпителии нарастают проявления вакуольной и балонной дистрофии, сохраняются признаки гиперкератоза. Коррекция энтеросгелем выявила на 21-28 сутки улучшение морфофункционального состояния СО ротовой полости, уменьшение отека собственной пластинки, стабилизацию показателей эпителия.

**Ключевые слова:** слизистая оболочка, ротовая полость, цисплатин, энтеросгель.

### TOXIC EFFECT OF CISPLATIN ON THE ORAL MUCOUS MEMBRANE AND ITS CORRECTION WITH ENTEROSGEL

**Abstract.** Marked signs of a lesion of the mucous tunic (MT) of the mouth are revealed up to the 14th circadian period in an experiment on 45 albino rats by means of histologic and morphometric methods (the term of the experiment – 28 circadian periods after terminating the administration of cisplatin). From 14th till the 21st circadian period manifestations of vacuolar and ballooning degeneration augment simultaneously with the restoration of the morphometric indices in the epithelium, the signs of hyperkeratosis persist. Enterosgel correction revealed on days 21-28 an improvement of the morphofunctional condition of the MT of the oral cavity, a decrease of an edema of the lamina propria mucosae, a stabilization of the epithelial indices.

**Key words:** mucous membrane, oral cavity, cisplatin, enterosgel.

National Medical University (Ivano-Frankivs'k)

Надійшла 02.02.2010 р.

Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)