

<https://doi.org/10.17116/rosstomat20171048-11>

Биохимические показатели ротовой жидкости у детей с онкологическими заболеваниями на фоне полихимиотерапии

О.А. АЛЕКСАНДРОВА*, к.б.н. М.Ю. ЖИТКОВ, д.м.н., проф. Ю.А. ВИННИЧЕНКО

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования — определение механизмов нарушения слюнообразования у детей, больных онкологическими заболеваниями, на фоне полихимиотерапии. **Материал и методы.** У 15 детей (11 мальчиков и 4 девочки) в возрасте от 12 до 17 лет с диагнозом остеосаркома до начала лечения, через 7 и 14 сут после начала курса полихимиотерапии в смешанной нестимулированной слюне определяли скорость слюноотделения, содержание калия, натрия, кальция, фосфора, общего белка, муцина и активность щелочной фосфатазы. Группа сравнения состояла из 15 (8 мальчиков и 7 девочек) практически здоровых детей аналогичного возраста. **Результаты.** Исходно у больных было несколько повышено содержание общего белка ($5,6 \pm 3,2$ г/л против $4,8 \pm 2,8$ г/л), муцина ($0,31 \pm 0,14$ г/л против $0,23 \pm 0,13$ г/л) и активность щелочной фосфатазы (37 ± 12 Е/л против 25 ± 15 Е/л) и снижено содержание фосфата ($9,1 \pm 6,1$ ммоль/л против $11,3 \pm 3,0$ ммоль/л). Концентрация калия ($15,6 \pm 4,8$ ммоль/л) и натрия ($4,4 \pm 1,1$ ммоль/л) за время лечения не изменялась. Во время полихимиотерапии скорость слюноотделения равномерно повышалась с $0,81 \pm 0,33$ до $0,99 \pm 0,38$ мл/мин, а концентрация кальция и фосфата снижалась с $1,9 \pm 1,1$ до $1,2 \pm 0,4$ и с $9,1 \pm 6,1$ до $6,0 \pm 2,6$ ммоль/л соответственно. Содержание общего белка и муцина повысилось к 7-му дню лечения ($8,0 \pm 5,5$ и $0,42 \pm 0,21$ г/л соответственно) с последующим снижением ($3,8 \pm 1,6$ и $0,30 \pm 0,12$ г/л соответственно), что коррелирует с динамикой клинических проявлений мукозита. Полихимиотерапия относительно слабо затрагивает транспорт воды и электролитов в слюнных железах, в то время как синтетические процессы нарушаются в заметной степени.

Ключевые слова: дети, остеосаркома, химиотерапия, скорость слюноотделения, биохимические показатели ротовой жидкости.

The biochemical indicators of the oral fluid of children with cancer in the background polychemotherapy

O.A. ALEKSANDROVA, M.YU. ZHITKOV, YU.A. VINNICHENKO

Central research institute of dental and maxillofacial surgery, Moscow, Russia

The aim of investigation was to refine mechanisms of chemotherapy adverse effects on salivary gland function. **Material and methods.** For 15 children between the ages of 12 to 17 years (11 boys and 4 girls) diagnosed with osteosarcoma before treatment, at days 7 and 14 of chemotherapy were measured unstimulated salivary flow rate, concentrations of potassium, sodium, calcium, phosphorus, total protein (TP), mucin and alkaline phosphatase (ALP) activity. The control group consisted of 15 (8 boys and 7 girls) healthy children of the same age. **Results.** Initially, patients had elevated TP content (5.6 ± 3.2 g/l vs. 4.8 ± 2.8 g/l), mucin (0.31 ± 0.14 g/l vs. 0.23 ± 0.13 g/l) and ALP (37 ± 12 U/l vs. 25 ± 15 U/l) and decreased phosphate content of (9.1 ± 6.1 mmol/l vs. 11.3 ± 3.0 mmol/l). During chemotherapy potassium (15.6 ± 4.8 mmol/l) and sodium 4.4 ± 1.1 mmol/l levels did not change. Salivation rate uniformly increased from 0.81 ± 0.33 to 0.99 ± 0.38 ml/min and the calcium and phosphate concentration decreased from 1.9 ± 1.1 to 1.2 ± 0.4 and from 9.1 ± 6.1 to 6.0 ± 2.6 mmol/l respectively. TP and mucin levels rose to day 7 (8.0 ± 5.5 and 0.42 ± 0.21 g/l respectively), followed by reduction (3.8 ± 1.6 and 0.30 ± 0.12 g/l respectively) to day 14, while ALP decreased to day 7 (18 ± 11 U/l) and increased to day 14 (31 ± 28 U/l). It correlates with the dynamics of mucositis clinical manifestations. **Conclusion.** Polychemotherapy weakly affects the transport of water and electrolytes in the salivary glands, while synthetic processes are broken to an appreciable extent.

Keywords: children, osteosarcoma, chemotherapy, salivary flow rate, biochemical indicators of the oral fluid.

Одним из частых осложнений в полости рта при радио- и химиотерапии онкологических заболеваний является мукозит. Клинически он проявляется эритемой, изъязвлениями и болезненностью слизистых оболочек полости рта, которые обычно появ-

ляются на 4–7-е сутки от начала химиотерапии. Клиническое исчезновение симптомов совпадает с периодом нормализации показателей периферической крови и составляет от нескольких дней до месяца [1]. В настоящее время не выработано единой

тактики профилактики и лечения этого осложнения. Помимо серьезного ухудшения качества жизни больных (боль при разговоре, жевании, глотании), заставляющего снижать дозы препаратов или сокращать длительность их применения, он может приводить к гнойно-воспалительным заболеваниям вплоть до бактериемии и септицемии. В патогенезе основное значение придается повреждению быстроделющихся клеток эпителия под действием химиотерапевтических препаратов и излучения. Вместе с тем определенную роль играют обнаруженные рядом исследователей [2—4] нарушения слюнообразования как вызванные онкологическим заболеванием, так и ятрогенные. Слюна играет важную роль в поддержании гомеостаза и защите структур ротовой полости, поэтому изменения в ее количестве и качестве оказывают влияние на возникновение и течение практически любого патологического процесса в этой области.

Цель исследования — выяснение механизмов нарушения слюнообразования у больных с онкологическими заболеваниями на фоне полихимиотерапии. С этой целью определяли скорость слюноотделения и содержание в смешанной слюне компонентов, отражающих действие гематосаливарного барьера (электролиты) и синтетическую функцию слюнных желез (общий белок, щелочная фосфатаза, гликопротеиды) перед началом очередного курса полихимиотерапии и в процессе лечения.

Исследованы 15 детей (11 мальчиков и 4 девочки) в возрасте от 12 до 17 лет с диагнозом остеосаркома (IV стадия — у 1, III стадия — у 2, II стадия — у 12) на фоне проведения полихимиотерапии (ПХТ). Противоопухолевое лечение проводилось по принятым в НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН научным протоколам, включающим следующие препараты: метотрексат, цисплатин, доксорубин, ифосфамид, эпозид, циклофосфан, винкристин. На момент исследования испытуемым было проведено от 1 до 9 курсов длительностью 14 сут, у 6 испытуемых наблюдение проводили в течение двух последовательных курсов. Перед началом курса ПХТ, а также через 7 и 14 сут после начала курса отбирали смешанную слюну без стимуляции натошак, время получения материала — от 8 до 9 ч утра. Группу сравнения составили 15 (8 мальчиков и 7 девочек) практически здоровых детей аналогичного возраста, прошедших терапевтическую санацию рта в отделении госпитальной терапевтической стоматологии ЦНИИС и ЧЛХ Минздрава России. Пробы слюны брали однократно в тех же условиях. В процессе забора материала определяли скорость слюноотделения. Слюну замораживали сразу после отбора, сохраняя при температуре $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ и размораживали непосредственно перед исследованием. Повторное замораживание и размораживание не допускали. В слюне

определяли содержание кальция (метод с арсеназо III), фосфора (молибдатный метод), общего белка (биуретовый метод) и активность щелочной фосфатазы (метод с п-нитрофенилфосфатом) наборами реактивов фирмы BioSystems и общего белка (методом Лоури с помощью спектрофотометра КФК-3, Россия), концентрацию калия и натрия ионселективными электродами (НИКО-Аналит). Содержание гликопротеидов определяли методом с альциановым синим с использованием в качестве стандарта муцина слюны человека [5]. Для получения муцина смешанную нестимулированную слюну 8 здоровых доноров смешивали с этанолом (96°) в соотношении 1:10 и отделяли муцин центрифугированием в течение 20 мин при 5000 об/мин. Осадок муцина растворяли в воде и повторно осаждали муцин этанолом в тех же условиях. Далее осадок муцина высушивали до постоянной массы над безводным хлоридом кальция. Растворы сухого препарата в воде с концентрацией от 0,1 до 1,0 г/л использовали для построения градуировочной кривой.

Для каждого показателя определяли среднее значение и стандартное отклонение. Сравнение показателей проводили с помощью критерия Вилкоксона (Манна—Уитни) и коррелятивного анализа.

Результаты

В основной группе до лечения содержание общего белка, щелочной фосфатазы и муцина было повышено относительно группы сравнения, а уровень фосфата снижен ($p < 0,05$) (см. таблицу). Коэффициенты корреляции изученных показателей для всех сроков наблюдения с числом уже проведенных курсов ПХТ ни в одном случае не превысили 0,20, свидетельствуя, что в интервале между курсами ПХТ функции слюнных желез успевали полностью восстановиться. Таким образом, указанные изменения в составе слюны, скорее всего, обусловлены основным заболеванием.

Исследованные показатели по динамике можно разделить на три группы. В 1-ю группу входят калий и натрий. Их значения относительно стабильны за время наблюдения, а отклонения от таковых в группе сравнения незначимы, из чего можно заключить, что основное заболевание и применяемые методы лечения не оказывают заметного влияния на соответствующие процессы в слюнных железах.

2-я группа показателей демонстрирует монотонное снижение (кальций и фосфат) или повышение (скорость слюноотделения) в течение курса ПХТ. Для этих показателей влияние ПХТ может считаться установленным.

Наконец, для 3-й группы характерна фазность изменения — повышение (общий белок и муцин) или понижение (щелочная фосфатаза) к 7-м суткам с возвращением к исходному уровню на 14-е сутки.

Средние значения биохимических показателей слюны в основной группе и группе сравнения (M±σ)

Параметр	Основная группа (n=15)			Группа сравнения (n=15)
	до лечения	7-е сутки лечения	14-е сутки лечения	
Скорость слюноотделения, мл/мин	0,81±0,33	0,88±0,45* +	0,99±0,38** ++	0,80±37
Общий белок (биуретовый метод), г/л	5,6±3,2*	8,0±5,5** ++	3,8±1,6** ++	4,8±2,8
Общий белок (метод Лоури), г/л	4,3±3,7	7,2±6,3* +	3,2±2,8	3,5±3,0
Щелочная фосфатаза, Е/л	37±12*	18±11***	31±28** +	25±15
Муцин, г/л	0,31±0,14**	0,42±0,21****	0,30±0,12*	0,23±0,13
Кальций, мМоль/л	1,9±1,1	1,3±0,7* +	1,2±0,4****	1,7±0,8
Фосфат, мМоль/л	9,1±6,1*	9,0±4,3**	6,0±2,6****	11,3±3,0
Калий, мМоль/л	15,6±4,8	17,2±2,7	13,4±3,6	14,1±3,5
Натрий, мМ/л	4,4±1,1	4,2±1,7	4,1±1,6	4,6±1,4

Примечания: * — уровень значимости отличий от группы сравнения $0,01 < p < 0,05$; ** — уровень значимости отличий от группы сравнения $p \leq 0,01$; + — уровень значимости отличий от исходного уровня $0,01 < p < 0,05$; ++ — уровень значимости отличий от исходного уровня $p \leq 0,01$; *** — уровень значимости оценивали по критерию Вилкоксона (Манна—Уитни).

В этом случае наблюдается явный параллелизм с развитием клинических проявлений мукозита у обследованных больных — нарастание числа и выраженности к 7-м суткам с последующим затуханием.

Результаты определения содержания общего белка двумя разными методами были в целом близки (коэффициент корреляции 0,63), хотя метод Лоури дает меньшее среднее значение и заметно больший разброс результатов. Ожидаемо, различия между группами при определении содержания белка по методу Лоури имели меньшую значимость, чем при использовании биуретового метода и в дальнейшем отдельно не рассматривались.

Обсуждение

В отличие от других авторов [3, 6], снижения саливации нами не выявлено ни при онкологическом заболевании, ни во время ПХТ. Более того, ПХТ сопровождается нарастающим повышением скорости нестимулированного слюноотделения, что согласуется с наблюдениями [7].

Постоянство уровня калия и натрия указывает на сохранность функции активного транспорта этих ионов в клетках слюнных желез при онкопатологии и ПХТ. В то же время ПХТ заметно угнетает транспорт кальция и фосфата. Снижение содержания фосфата отмечено и до начала ПХТ.

Уровень белковых компонентов (общего белка, щелочной фосфатазы и муцина) в основной группе повышен до начала лечения. ПХТ приводит к повышению содержания общего белка и муцина с последующим его снижением, причем содержание общего белка становится ниже исходного. Активность щелочной фосфатазы наоборот сначала снижается, а затем возвращается к исходному уровню. Повышение содержания общего белка можно связать с поступлением экссудата и продуктов клеточного распада при развитии воспалительных процессов, оно особенно велико у пациентов с плохой гигиеной

полости рта и наиболее выраженными симптомами мукозита. К сожалению, относительно небольшое число таких пациентов (5 человек) не позволило установить степень закономерности этих сдвигов. Примечательно, что активность щелочной фосфатазы снижалась у всех пациентов, хотя эти изменения были кратковременными и преходящими. Подобное извращение физиологической реакции может свидетельствовать о серьезных нарушениях защитных механизмов или их истощении. Возможно, это связано с лейкопенией, сопровождающей ПХТ. Скорее всего, повышенная частота кариеса у обследованных больных обусловлена общим снижением защитных свойств слюны и плохой гигиеной полости рта. Изменения функций слюнных желез быстро восстанавливаются и не кумулируются, что согласуется с данными литературы [3].

Заключение

Изменения в составе слюны выявлены у всех обследованных лиц с остеосаркомой, причем ПХТ сопровождается дополнительными сдвигами в составе слюны, которые могут, с одной стороны, являться элементом патогенеза мукозита, а с другой — способствовать развитию инфекционных осложнений. При ПХТ активный транспорт воды и электролитов через гематосаливарный барьер нарушается незначительно, тогда как синтетические процессы в слюнных железах сильно угнетаются. В нашем исследовании не выявлено влияния основного заболевания на скорость слюноотделения, более того в ходе ПХТ происходило некоторое ее увеличение. Возможно, это изменение носит компенсаторный характер.

Наши данные подтверждают выводы [8] о том, что для определения содержания общего белка в слюне предпочтителен биуретовый метод. Его чувствительность вполне удовлетворительна, а влияние мешающих факторов (выражающееся, в частности,

в величине разброса значений) существенно меньше, чем для метода Лоури.

В целом можно согласиться с предложением [6] стимулировать слюноотделение для профилактики мукозитов у пациентов с онкозаболеваниями при ПХТ. Антибактериальная терапия также может рас-

сматриваться как адекватная заместительная терапия на фоне нарушения механизмов антимикробной защиты в полости рта [4].

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Scully C., Epstein J., Sonis S. Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy, chemotherapy, and radiochemotherapy: part 1, pathogenesis and prophylaxis of mucositis. *Head Neck*. 2003 Dec;25(12):1057-1070. <https://doi.org/10.1002/hed.10318>
2. Jehmlich N, Stegmaier P, Golatowski C, Salazar MG, Rischke C, Henke M, Völker U. Differences in the whole saliva baseline proteome profile associated with development of oral mucositis in head and neck cancer patients undergoing radiotherapy. *J Proteomics*. 2015 Jul 1;125:98-103. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.04.030>
3. Meurman JH, Laine P, Keinanen S, Pyrhonen S, Teerenhovi L, Lindqvist C. Five-year follow-up of saliva in patients treated for lymphomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1997 Apr;83(4):447-452. [https://doi.org/10.1016/s1079-2104\(97\)90143-8](https://doi.org/10.1016/s1079-2104(97)90143-8)
4. Karolewska E, Konopka T, Pupek M, Chybicka A, Mendak M. Antibacterial potential of saliva in children with leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008 Jun;105(6):739-744. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2007.10.010>
5. Gold EW. A simple spectrophotometric method for estimating glycosaminoglycan concentrations. *Analytical Biochemistry*. 1979;99(1):183-188. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90061-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90061-7)
6. Eghbali A, Taherkhanchi B, Bagheri B, Sadeghi SB. Effect of chewing gum on oral mucositis in children undergoing chemotherapy: a randomized controlled study. *Iran J Ped Hematol Oncol*. 2016;6(1):9-14.
7. Попруженко Т.В., Борис С.П. Саливация у детей при противоопухолевой химиотерапии. // *Стоматология*. — 2016. — Т. 95(2). — С 30-33. [Popruzhenko TV, Boris SP. Salivation in children during anticancer. *Stomatologiya*. 2016;95(2):30-33. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/stomat201695230-33>
8. Jenzano JW, Hogan SL, Noyes CM, Featherstone GL, Lundblad RL. Comparison of five techniques for the determination of protein content in mixed human saliva. *Analytical Biochemistry*. 1986 Dec;159(2):370-376. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(86\)90355-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(86)90355-6)