

12. Vaček A., Michurina T. and Serova L.V. Decrease in the number of progenitors of erythrocytes, granulocytes and macrophages in bone marrow of rats after a 14-day flight on board the Cosmos -2044 Biosatellite. *Folia Biol.*, 1991, v. 37, p. 35–41.

Поступила в редакцию 24.08.10

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF MESENTERIC LYMPH NODES IN HYPOKINESIA MODELING

K.A. Garunova, D.Ye. Grigorenko and G.G. Aminova

Using histological methods, qualitative and quantitative changes in cell composition were studied in mesenteric lymph

nodes in 20 male Wistar rats after experimental 30 days-long hypokinesia, and in 10 rats 1 month following the cessation of mobility restriction. Hypokinesia was found to result in massive destruction of lymphoid cells in the structural organ zones, suppression of lymphocytopoiesis, reduction in plasma cell and macrophage numbers, indicating the dampening of the immune reactions, however the full restoration of the cytoarchitectonics in the structural zones of lymph nodes did not take part 30 days following the cessation of hypokinesia.

Key words: *lymph node, lymphocytopoiesis, cell destruction, hypokinesia*

Laboratory of Functional Anatomy, RAMS Institute of Morphology, Moscow

© И.В. Леонтьева, В.Л. Быков, 2011
УДК 611.31.018.25:599.323.4

И.В. Леонтьева и В.Л. Быков

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИТЕЛИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ВВЕДЕНИИ ЦИТОСТАТИКА

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. В.Л. Быков), Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

Влияние цитостатика циклофосфана (ЦФ) на эпителий языка изучали на 90 самках мышей с использованием гистологических, морфометрических, количественных гистохимических и иммуногистохимических методов. ЦФ в дозе 400 мг/кг массы тела вводили внутривенно трижды с интервалом в 48 ч. Материал получали через 2 сут после инъекций препарата и спустя 10–20 сут после их прекращения. Показано, что воздействие ЦФ приводит к повреждению покровного эпителия и эпителия малых слюнных желез языка. Повреждения покровного эпителия более выражены на вентральной поверхности языка, где происходит преимущественное нарушение пролиферативной активности эпителиоцитов. На дорсальной поверхности изменения проявляются нарушениями процессов дифференцировки и десквамации. Железистый эпителий повреждается в меньшей степени, чем покровный, причем сероциты более чувствительны к цитотоксическому воздействию, чем мукоциты. После отмены цитостатика наблюдается тенденция к нормализации характеристик эпителия. Наиболее стойкие изменения в покровном эпителии отмечены на дорсальной поверхности языка, а в железистом эпителии — в белковых концевых отделах слюнных желез.

Ключевые слова: *полость рта, покровный эпителий, малые слюнные железы, циклофосфан*

Применение цитостатиков при химиотерапии онкологических заболеваний и подготовке к пересадке костного мозга часто вызывает развитие поражения слизистой оболочки полости рта (СОПР) — мукозита [2, 5, 13, 17, 28]. Это осложнение характеризуется повреждением главного защитного барьера слизистой оболочки — эпителия — с развитием его структурных и функциональных нарушений, вплоть до очаговой деструкции (изъязвления), которая в сочетании с лейкопенией создает условия для развития опасного для жизни системного инфекционного процесса [3, 4, 18, 29]. Между тем, сведения об изменениях эпи-

телиа СОПР в условиях цитостатической терапии немногочисленны [19, 21, 26], хотя они необходимы для разработки эффективных клинических методов профилактики и лечения мукозитов. Эти данные могут представлять и теоретический интерес для биологии тканей, поскольку позволяют оценить развитие процессов повреждения и регенерации эпителия СОПР в уникальных условиях введения цитостатиков, вызывающих цитотоксический эффект и подавляющих пролиферативную активность тканей. Поэтому целью настоящей работы явилось экспериментальное морфофункциональное изучение повреждающего действия

цитостатика на покровный и железистый эпителий СОПР с учетом их топографических особенностей, а также оценка обратимости происходящих изменений.

Материал и методы. В опыте использовали 90 самок белых беспородных мышей массой 23–25 г. Животным экспериментальной группы трижды с интервалом в 48 ч (75 мышей, по 15 мышей на отдельный срок наблюдения) внутривенно вводили цитостатик алкилирующего ряда — циклофосфан (ЦФ, ЛЭНС-Фарм, Россия) в дозе 400 мг/кг массы тела. Животным контрольной группы (15 мышей) с той же периодичностью вводили изотонический раствор хлорида натрия. Материал для исследования брали через 2 сут после 1-й и 3-й инъекций ЦФ. Для изучения обратимости изменений, вызванных ЦФ, взятие материала осуществляли через 10, 15 и 20 сут после 3 инъекций препарата. Объектом исследования явились покровный эпителий слизистой оболочки и малые слюнные железы языка, которые в клинических условиях часто поражаются при терапии цитостатиками [5, 11, 19]. При осуществлении эксперимента соблюдали «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Эксперимент выполняли в соответствии с решением Этического комитета СПбГМУ от 19.11.2009 г.

Для гистологического исследования материал фиксировали в смеси формалина–спирта–уксусной кислоты по Лилли, обрабатывали по стандартной методике и заливали в парафин. Продольные и поперечные срезы окрашивали гематоксилином–эозином и азуром II–эозином.

Морфометрическое исследование проведено с использованием линейного окулярного микрометра: при об. 40, ок. 7, измеряли толщину эпителиального пласта и его слоёв. У каждого животного выполняли по 100 измерений в различных участках на 5 срезах. В базальном слое эпителия подсчитывали фигуры митоза, просматривая не менее 3000 клеток у каждой мыши при об. 90, ок. 10. Показатели учитывали в разных топографических зонах языка: на дорсальной поверхности (ДП) в области нитевидных сосочков и между ними, а также на вентральной поверхности (ВП).

Гистохимическое исследование выполнено на парафиновых и криостатных срезах. На парафиновых срезах гликозаминогликаны выявляли альциановым синим (рН 2,7), гликопротеины — ШИК-реакцией, суммарные белки — тетразолиевой реакцией на гистидин, тирозин и триптофан по Берстону. На криостатных срезах толщиной 10 мкм тетразолиевым методом по Лойда [7] выявляли активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ).

Цитофотометрическое исследование гистохимических реакций проводили на спектроцитометре плаг-методом [1] при об. 40, ок. 7, площади зонда 0,785 мкм², выражая результаты в относительных единицах оптической плотности. Проводили по 100 измерений на срезе языка у каждого животного при длине волн, соответствующих максимумам поглощения продуктов гистохимических реакций (467 нм — реакция выявления суммарных белков, 545 нм — СДГ, 595 нм — ШИК-реакция и 645 нм — альциановый синий).

Иммуногистохимическое исследование включало выявление бромдезоксигуанидина (BrdU) как маркера пролиферативной активности [30]. Для этого 1 мл (1 мг) раствора BrdU (BD Pharmingen, США) вводили животным внутривенно за 1 сут до взятия материала. На материале, фиксированном в забуференном 10% растворе формалина, выявляли клетки

с маркированными ядрами (BrdU⁺-клетки). Для этого срезы последовательно обрабатывали биотинилированными мышечными моноклональными антителами к BrdU (BD Pharmingen, США), затем стрептавидином, конъюгированным с пероксидазой хрена — HRP (BD Pharmingen, США), конъюгатом тирамида с флюоресцеином и антифлюоресцеином-HRP из амплифицирующего набора CSA II (Dako, Дания). Далее срезы инкубировали с раствором хромогена — диаминобензида (Dako, Дания) и докрашивали астровым синим. Подсчитывали количество BrdU⁺-клеток на 1000 клеток базального слоя при об. 90, ок. 10.

Статистическая обработка количественных данных проведена с использованием программного пакета Statistica for Windows V6.0 на персональном компьютере Pentium III. Для каждого показателя определяли среднее значение и его стандартную ошибку. Оценку статистической значимости полученных данных проводили по критерию Стьюдента, различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования. *Характеристика покровного эпителия.* При введении ЦФ визуально отмечено, что на ВП языка толщина эпителиального пласта уменьшается за счет истончения шиповатого слоя при утолщении рогового (рисунок, а, б). На ДП толщина эпителия несколько увеличивается за счет расслоения рогового слоя (см. рисунок, в, г). Зернистый слой утолщается, в его клетках появляются крупные кератогиалиновые гранулы.

По данным морфометрического исследования (табл. 1), после 3-й инъекции ЦФ толщина эпителия на ДП в межсосочковой области и на вершине сосочков языка возрастает на 43 и 28% соответственно. На ВП языка отмечается уменьшение этого показателя на 40%, истончение шиповатого слоя на 60% и увеличение толщины рогового слоя на 20%.

Митотическая активность эпителиоцитов во всех топографических зонах падает (см. табл. 1), максимально (на 67%) — на ВП языка после 3-й инъекции ЦФ. Относительное содержание BrdU⁺-клеток в базальном слое эпителия значительно снижается по сравнению с таковым в группе контроля во всех топографических зонах. Уменьшение величины этого показателя на сосочках языка и между ними на ДП составляет около 50% по сравнению с контролем. Максимальное снижение (на 59%) наблюдается на ВП языка.

Концентрация суммарных белков в шиповатом и роговом слоях эпителия при введении ЦФ уменьшается по сравнению с контролем во всех топографических зонах. Наиболее выраженное снижение (на 40% в шиповатом и на 30,5% — в роговом слое) наблюдается на ДП в области сосочков языка. Между сосочками на ДП и на ВП этот показатель снижается в среднем на 28% и на 15% — в шиповатом и роговом слоях соответственно. После 3 инъекций ЦФ наблюдается

Таблица 1

Сравнительная характеристика покровного эпителия языка мыши при введении циклофосфана ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Исследованные показатели	Контроль			1 инъекция			3 инъекции		
	ДП-М	ДП-С	ВП	ДП-М	ДП-С	ВП	ДП-М	ДП-С	ВП
Толщина, мкм:									
ЭП	53,4±3,7	86,8 ±3,9	48,3±2,5	64,1±3,3*	102,2±2,8*	47,7±2,6	76,1±3*	115,5±2,8*	38,4±2,5*
ШС	20,6±1,1	18,8±1,1	20,3±1,2	20,1±1,3	17,8±1,2	17,9±1,5*	17,9±1,4*	17,1±1,5*	10,1±1,7*
РС	15,4±1,5	49,6±2,2	12±0,9	20,1±1,8*	60,1±2,8*	14,1±1	28,6±2*	66,1±3*	14,4±1*
Митотическая активность, %	29,1±1,5	32,4±1,3	30,3±1,5	27,7±0,9	33,5±1,2	30,1±1,1	20,3±1,2*	20,1±1,5*	10,4±1,5*
Относительное содержание BrdU ⁺ -клеток, %	45,2±2,4	49,2±2,4	43,4±2,8	42,1±2,1	47,9±2,3	42,2±2,2	21,0±1,8*	24,3±1,7*	18,2±1,5*
Концентрация СБ, отн. ед.:									
ШС	0,28±0,03	0,3±0,03	0,25±0,02	0,22±0,04	0,22±0,02	0,19±0,02	0,2±0,03*	0,18±0,03*	0,18±0,03*
РС	0,55±0,03	0,59±0,05	0,6±0,04	0,52±0,05	0,51±0,04	0,52±0,05	0,47±0,07*	0,41±0,06*	0,5±0,04*
Активность СДГ, отн. ед.:									
БС	0,4±0,03	0,38±0,01	0,43±0,01	0,33±0,03	0,33±0,03	0,4±0,03	0,3±0,02*	0,28±0,03*	0,35±0,03*
ШС	0,3±0,03	0,29±0,03	0,31±0,02	0,28±0,03	0,27±0,02	0,31±0,02	0,22±0,02*	0,2±0,02*	0,27±0,01*

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: ВП — вентральная поверхность языка; ДП-М — дорсальная поверхность языка между сосочками; ДП-С — дорсальная поверхность языка на сосочках; ЭП — эпителиальный пласт; БС — базальный слой; ШС — шиповатый слой; РС — роговой слой; СДГ — сукцинатдегидрогеназа; СБ — суммарные белки. * Различия по сравнению с показателями в контрольной группе значимы при $P < 0,05$.

значимое падение активности СДГ как в базальном, так и шиповатом слое эпителия: максимально — на ДП языка в шиповатом слое в области сосочков, где активность фермента снижается на 30% по сравнению с этим показателем в группе контроля. В межсосочковой области данный показатель снижается на 25%, на ВП языка — на 15% (см. табл. 1).

После отмены ЦФ происходит постепенная нормализация толщины эпителия на ВП и ДП между сосочками языка (табл. 2). На 15-е сутки после 3 инъекций препарата наблюдается инфильтрация эпителия лейкоцитами, особенно отчетливо выраженная на ВП. На 20-е сутки на вершине сосочков языка эпителий немного (на 11%), но значимо утолщен за счет сохраняющегося разрыхления рогового слоя.

После отмены ЦФ показатели пролиферативной активности эпителия возрастают: на 15-е сутки митотическая активность в межсосочковой области ДП и на ВП превышает соответствующие показатели в группе контроля на 33%, а доля BrdU⁺-клеток — увеличена на 25 и 46% соответственно, оставаясь повышенной и на 20-е сутки (см. табл. 2). Концентрация суммарных белков и активность СДГ нормализуются во всех локализациях к 10–15-м суткам после отмены ЦФ.

Характеристика железистого эпителия. При введении ЦФ визуально отмечается уменьшение размеров концевых отделов и высоты образующих их клеток в задних язычных белковых слюнных железах — уже после 1-й инъекции ЦФ, а в задних смешанных язычных железах — после 3-й инъекции ЦФ. При цитофотометрии в секреторных клетках определяется значимое уменьшение активности СДГ по сравнению с таковой в контрольной группе (табл. 3): в сероцитах на 22 и 35% соответственно после 1-й и 3-й инъекции ЦФ, в мукоцитах — только после 3-й инъекции ЦФ (на 15%). Концентрация суммарных белков в сероцитах после 1-й и 3-й инъекции ЦФ снижена на 37,5 и 34% соответственно. В мукоцитах смешанных концевых отделов статистически значимое снижение синтеза гликопротеинов (на 20%) и гликозаминогликанов (на 27%) происходит только после 3-й инъекции ЦФ.

Таблица 2

Сравнительная характеристика покровного эпителия языка мыши после отмены циклофосфана ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

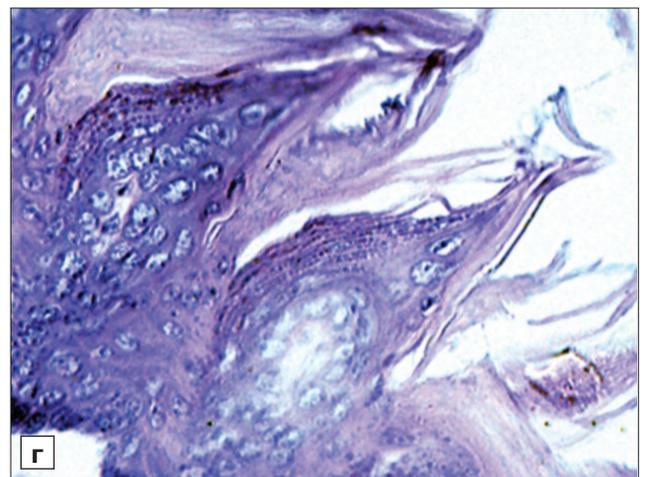
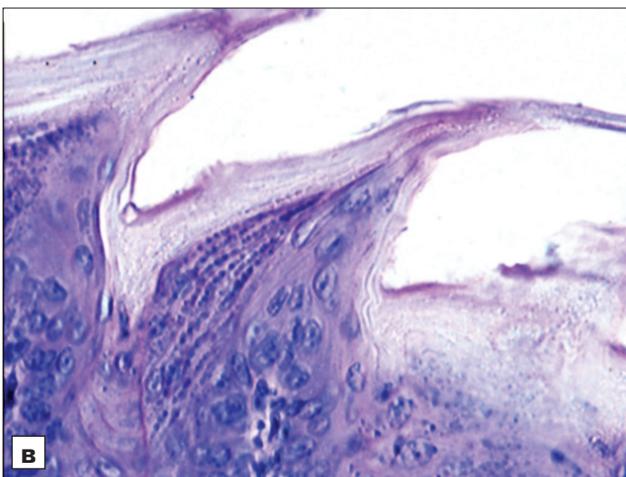
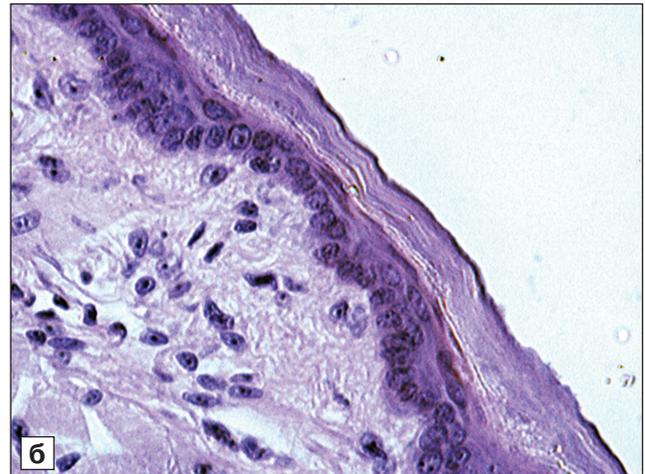
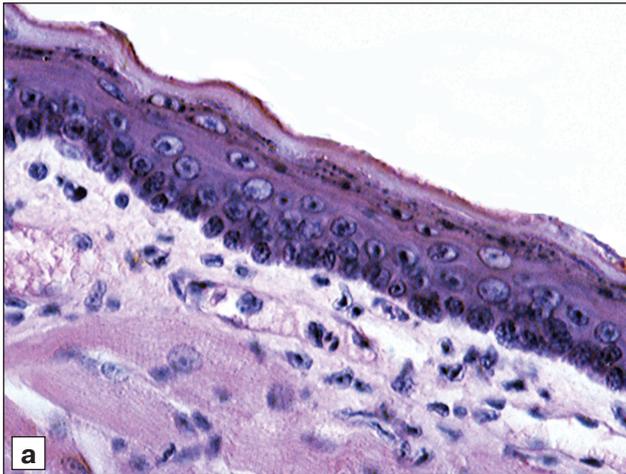
Исследованные показатели	Срок после отмены препарата, сут											
	10			15			20			20		
	ДП-М	ДП-С	ВП	ДП-М	ДП-С	ВП	ДП-М	ДП-С	ВП	ДП-М	ДП-С	ВП
Толщина, мкм:												
ЭП	70,1±3,3*	110,2±2,5*	36±2,4*	62,2±3,2*	105,8±3,5*	43,2±3,1*	54,3±2,8	98,1±2,6*	49,2±2,8			
ШС	18,7±1,1*	17,3±1,2	8,5±1,7*	19,1±1,2*	18±1,5	15,7±1,9*	20,6±1,3	19,1±1,5	20,8±1,5			
РС	24,4±2,1*	66,2±3,0*	12,9±1,1	20,9±1,7	63,5±2,2*	12,7±1	15,6±1,5	58,1±2,3*	12,2±0,9			
Митотическая активность, %	19,8±1,4*	20,1±1,1*	16,4±1,2*	37,3±1,3*	33,2±1,1	39,8±1,8*	30,1±1,6	30,4±1,5	33,4±1,3			
Относительное содержание BrdU ⁺ -клеток, %	32,9±1,5*	35,5±1,4*	30,3±1,7*	57,2±3,4*	60,8±2,9*	63,1±3,2*	54,3±3,2*	60,2±2,5*	55,7±2,3*			
Концентрация СБ, отн. ед.:												
ШС	0,26±0,03	0,25±0,03	0,2±0,02	0,25±0,04	0,24±0,04	0,23±0,04	0,3±0,04	0,29±0,03	0,24±0,02			
РС	0,55±0,04	0,55±0,04	0,55±0,04	0,59±0,05	0,66±0,05	0,64±0,04	0,56±0,05	0,53±0,04	0,67±0,05			
Активность СДГ, отн. ед.:												
БС	0,32±0,04*	0,3±0,04*	0,37±0,04	0,35±0,04	0,34±0,03	0,39±0,03	0,39±0,04	0,35±0,02	0,41±0,02			
ШС	0,23±0,01*	0,21±0,02*	0,26±0,02*	0,24±0,02*	0,24±0,03	0,28±0,03	0,28±0,03	0,26±0,03	0,3±0,02			

После отмены препарата активность СДГ и концентрация суммарных белков в сероцитах на 10-е и 15-е сутки остаются сниженными по сравнению с показателями в контрольной группе и нормализуются только к 20-м суткам. Активность СДГ и концентрации гликопротеинов и гликозаминогликанов в мукоцитах не отличаются от контрольных значений уже на 10-е сутки после отмены ЦФ.

Обсуждение полученных данных. В проведенном нами исследовании выявлены морфофункциональные изменения как покровного, так и железистого эпителиев СОПР, возникающие под воздействием ЦФ.

Покровный эпителий характеризуется нарушениями процессов пролиферации, дифференцировки (включая ороговение) и десквамации. Введение цитостатика ингибирует пролиферацию клеток эпителия СОПР, повреждая его камбиальные (стволовые/прогениторные) клетки [14, 18], что на нашей модели демонстрируется снижением их митотической активности (на 31–67%) и уменьшением количества BrdU⁺-клеток в базальном слое (на 50–59%) после 3 инъекций препарата. Близкие результаты получены на другой экспериментальной модели (защечный мешок хомячков при введении 5-фторурацила): показано, что под влиянием цитостатика количество эпителиоцитов, содержащих BrdU, уменьшалось на 80% [24]. Снижение митотической активности отмечено также в эпителии пищевода после 3 инъекций ЦФ, однако после 1-й инъекции она возрастала по сравнению с контролем [6], последний эффект в эпителии языка нами не обнаружен.

Угнетение митотической активности на фоне трехкратного введения цитостатика приводило к уменьшению толщины шиповатого слоя эпителия во всех изученных топографических зонах, что, вероятно, связано с меньшим поступлением в него клеток из базального слоя. Наиболее выраженное истончение шиповатого слоя эпителия отмечено на ВП языка, что соответствует данным о максимальном снижении в этой зоне митотической активности и количества BrdU⁺-клеток. Здесь же обнаружено, несмотря на увеличение толщины рогового слоя, истончение всего эпителиального пласта. Атрофия эпителия СОПР является характерным признаком терапии цитостатиками [19, 21], однако ее развитие в других участках, вероятно, требует более длительных сроков воздействия; в изученные же нами ранние сроки этот эффект проявился



Вентральная (а, б) и дорсальная (в, г) поверхности языка мыши до (а, в) и после (б, г) введения циклофосфана (3 инъекции).

б — истончение эпителия за счет шиповатого слоя при утолщении рогового; г — разрыхление и дискомплексация рогового слоя эпителия, особенно отчетливо выраженные на нитевидных сосочках. Окраска гематоксилином–эозином. а, б — об. 40, ок. 10; в, г — об. 90, ок. 7.

только на ВП, тогда как на ДП эпителий был еще утолщен. Полученные данные о прогрессирующем истончении эпителия на ВП согласуются с клиническими наблюдениями о более частом развитии изъязвлений на ВП, чем на ДП [11].

Нарушения дифференцировки и десквамации эпителия проявляются изменениями соотношения толщины слоев, увеличением размеров кератогиалиновых гранул в клетках зернистого слоя, разрыхлением рогового слоя, его распадом на комплексы чешуек, которые своевременно не удаляются с поверхности нормальным механизмом десквамации. Расстройство последнего можно объяснить нарушениями процесса распада межклеточных соединений (корнеосом) в наружном слое эпителия, вероятно, вследствие недостаточного образования мембранопокрывающих веществ, способствующих формированию межклеточных соединений поврежденными клетками [10]. Эти нарушения наиболее выражены на

ДП в области сосочков языка и сопровождаются увеличением толщины эпителиального пласта. Описанные результаты согласуются с данными о нарастании толщины покровного эпителия пищевода, утолщении и разрыхлении его рогового слоя в ранние сроки после введения цитостатика [6]. Гиперкератоз эпителия щеки [22] и пищевода отмечен также у пациентов, получающих лечение цитостатиками [25].

Морфологические проявления повреждения и нарушения нормальной дифференцировки эпителия сочетаются с его гистохимическими изменениями, отражающими существенные метаболические сдвиги. Так, по нашим наблюдениям, введение цитостатика сопровождается снижением активности митохондриального фермента СДГ, характеризующего общую метаболическую активность клеток. Эти результаты полностью согласуются со сведениями об угнетении цитостатиками активности другого фермента, являю-

Таблица 3

**Сравнительная характеристика железистого эпителия языка мыши
при введении циклофосфана и после его отмены ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)**

Исследованные показатели	Контроль	1 инъекция	3 инъекции	Срок после отмены препарата, сут		
				10	15	20
Активность СДГ, отн. ед.:						
в СЦ	0,32±0,02	0,25±0,02*	0,21±0,02*	0,22±0,01*	0,25±0,03*	0,27±0,04
в МЦ	0,41±0,02	0,42±0,02	0,36±0,01*	0,39±0,03	0,42±0,04	0,4±0,03
Концентрация, отн. ед.:						
СБ в СЦ	0,32±0,02	0,20±0,02*	0,21±0,03*	0,22±0,04*	0,24±0,03	0,37±0,04
ГАГ в МЦ	0,3±0,02	0,29±0,02	0,22±0,02*	0,28±0,01	0,32±0,04	0,31±0,03
ГП в МЦ	0,56±0,05	0,54±0,03	0,45±0,02*	0,48±0,03	0,52±0,05	0,54±0,04

Примечание. СЦ — сероциты; МЦ — мукоциты; ГАГ — гликозаминогликаны; ГП — гликопротеины.

щегося индикатором состояния митохондрий — NADH-диафоразы — в эпителии пищевода [6]. Гистохимические данные соответствуют также результатам ультраструктурного анализа, выявившего повреждение митохондрий эпителиоцитов под действием ЦФ [8, 12], причем показано, что среди ряда изученных цитостатиков именно ЦФ оказывает наиболее выраженное влияние на эти органеллы [12]. Снижение активности СДГ варьирует в зависимости от участка слизистой оболочки — максимальный эффект отмечен на ДП в области сосочков.

После отмены ЦФ выявлена тенденция к нормализации структурных и функциональных показателей эпителия СОПР, что указывает на его высокие компенсаторные способности и активность регенерации на тканевом и клеточном уровнях. Толщина эпителиального пласта почти во всех участках возвращается к контрольным значениям к 20-м суткам после завершения введения препарата, что согласуется с данными, полученными при изучении эпителия пищевода [6, 9]. Лишь в области сосочков на ДП языка к концу опыта сохранялось разрыхление рогового слоя, приводящее к увеличению толщины эпителия. Умеренно выраженная лейкоцитарная инфильтрация эпителия в поздние сроки восстановительного периода указывает на выделение поврежденными эпителиоцитами (или колонизирующими их микроорганизмами) хемотаксических факторов, привлекающих клетки лейкоцитарного ряда, содержание которых в крови в этот период увеличивается вследствие устранения миелосупрессии и лейкопении [23].

Митотическая активность эпителиоцитов и количество BrdU⁺-клеток после отмены цитостатика возрастают и к концу эксперимента превышают контрольные значения, что, вероятно, является компенсаторной реакцией камбиальных клеток

эпителия после прекращения подавления их пролиферативной активности [20]. Гистохимические характеристики эпителиоцитов (активность СДГ, содержание белков) во всех участках также нормализуются.

Железистый эпителий, так же как и кровяной, служит чувствительной мишенью действия цитостатиков, вследствие чего химиотерапия приводит к тяжелым расстройствам функции слюнных желез с развитием ксеростомии, усугубляющей повреждения СОПР при мукозите [16]. Имеющиеся в литературе данные касаются, главным образом, больших желез, малые же остаются практически неисследованными, несмотря на ряд их функциональных отличий от больших и особое значение для защиты СОПР [15]. Нами изучено влияние цитостатика на морфофункциональные характеристики двух видов малых язычных слюнных желез — задних белковых (Эбнера) и задних смешанных (Вебера). Последние у человека описаны как чисто слизистые, однако у мышей они содержат белковые полулуния и поэтому относятся к смешанным. Повреждающее действие ЦФ на железы проявляется уменьшением объема их концевых отделов и железистых клеток. Эти процессы более выражены в сероцитах (белковых концевых отделов и белковых полулуний смешанных отделов), чем в мукоцитах (слизистых и смешанных концевых отделов). Как показало количественное гистохимическое исследование, в клетках желез снижается активность СДГ, причем сероциты реагируют на повреждение раньше и сильнее, чем мукоциты. В сероцитах под влиянием ЦФ происходит быстрое и значимое снижение концентрации суммарных белков; в мукоцитах изменения содержания гликопротеинов и гликозаминогликанов менее выражены и развиваются лишь после 3 инъекций препарата. Эти данные согласуются со сведениями о более

высокой чувствительности сероцитов больших слюнных желез к действию цитостатиков [27].

После отмены ЦФ гистохимические характеристики мукоцитов нормализуются быстро, а сероцитов — лишь через 10–15 сут. Отмеченное нами сравнительно быстрое восстановление структуры и функции клеток желез, по-видимому, обусловлено кратковременным введением цитостатика, не приводящим к необратимым изменениям их структуры и функции. Между тем, при современной химиотерапии высокими дозами цитостатиков могут развиваться тяжелые повреждения слюнных желез [16, 27], при которых их функция восстанавливается лишь спустя многие месяцы.

Таким образом, полученные данные показывают, что воздействие цитостатика приводит к повреждению покровного и железистого эпителиев СОПР. Язык, содержащий эти два вида эпителия, является удобным объектом для сравнительного исследования изменений, развивающихся в каждом из них. Более того, при его изучении имеется возможность сопоставления тканевых и клеточных изменений в структурно и функционально различающихся видах СОПР — выстилающей (ВП) и специализированной (ДП). Установлено, что выраженность и характер изменений покровного эпителия зависят от его топографии: в большей степени повреждается эпителий на ВП языка, в котором нарушается пролиферативная активность клеток, что приводит к истончению эпителиального пласта. Изменения эпителия на ДП выражены слабее и проявляются нарушениями процессов дифференцировки и десквамации. Железистый эпителий повреждается в меньшей степени, чем покровный, причем сероциты более чувствительны к цитотоксическому воздействию, чем мукоциты. После отмены цитостатика наблюдается тенденция к нормализации состояния эпителия СОПР. Наиболее стойки изменения в покровном эпителии на ДП языка и в железистом эпителии — в белковых концевых отделах слюнных желез.

Иммунохимическое исследование выполнено в лаборатории центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии Научно-исследовательского института экспериментальной медицины РАМН. Приносим свою искреннюю благодарность д-ру мед. наук Д.Э. Коржевскому и сотрудникам лаборатории за помощь в исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

- Агроскин Л.С. и Папаян Г.В. Цитофотометрия. Л., Наука, 1977.
- Бобров А.П. и Ткаченко Т.Б. Изменения слизистой оболочки полости рта у онкологических больных на фоне проводимой химиотерапии (обзор литературы). *Стоматология*, 2006, № 6, с. 70–73.
- Быков В.Л. Тканевые и клеточные защитные механизмы слизистой оболочки полости рта. *Морфология*, 1996, т. 110, вып. 6, с. 14–24.
- Быков В.Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта. *Стоматология*, 1997, № 2, с. 15–20.
- Власова Н.А. Морфологические и гистохимические изменения органов пищеварительной системы под влиянием некоторых противоопухолевых препаратов: Автореф. дис... канд. мед наук. Киев, 1980.
- Исеева Е.А. и Быков В.Л. Морфофункциональные изменения пищевода при воздействии цитостатика. *Морфология*, 2006, т. 130, вып. 6, с. 62–67.
- Лойда З., Госсрау Р. и Шиблер Т. Гистохимия ферментов. М., Мир, 1982.
- Юкина Г.Ю., Неворотин А.И. и Быков В.Л. Ультраструктурные и метаболические характеристики тироцитов при действии циклофосфана. *Морфология*, 2004, т. 125, вып. 1, с. 66–71.
- Albertsson M., Hakansson C.H. and Palmegren M. Changes in the esophageal epithelium in rabbits treated by cis-dichlorodiammineplatinum as studied by electron microscopy. *Scanning Microsc.*, 1990, v. 4, № 1, p. 143–149.
- Ashrafi S.H., Meyer J. and Squier C.A. The ultrastructural demonstration of membrane-coating granules in rat oral epithelium using the periodic acid-bismuth technique. *Arch. Oral Biol.*, 1977, v. 22, № 5, p. 343–347.
- Barrett A.P. Clinical characteristics and mechanisms involved in chemotherapy-induced oral ulceration. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 1987, v. 63, № 4, p. 424–428.
- Bessler H., Straussberg R., Alexandrova S. et al. Effects of oral chemotherapy on the mitochondrial size of mouse intestinal cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1996, v. 38, № 1, p. 35–38.
- Blijevens N.M., van't Land B., Donnelly J.P. et al. Measuring mucosal damage induced by cytotoxic therapy. *Support. Care Cancer*, 2004, v. 12, № 4, p. 227–233.
- Cameron I.L. Cell proliferation, migration and specialization in the epithelium of the mouse tongue. *J. Exper. Zool.*, 1966, v. 163, p. 271–284.
- Hand A.R., Pathmanathan D. and Field R.B. Morphological features of the minor salivary glands. *Arch. Oral Biol.*, 1999, v. 44, Suppl. 1, p. S3–S10.
- Jensen S.B., Pedersen A.M., Reibel J. and Nauntofte B. Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. *Support Care Cancer*, 2003, v. 11, № 4, p. 207–225.
- Kokkonen J., Mottonen M., Karttunen T.J. and Lanning M. Mucosal pathology of the upper gastrointestinal tract associated with intensive chemotherapy in children: vitamin A supplements do not prevent lesions. *Pediatr. Hematol. Oncol.*, 2002, v. 19, № 3, p. 181–192.
- Lalla R.V., Peterson D.E., Brennan M.T. and Schubert M.M. Oral Toxicity. In: *The Chemotherapy Source Book*. 4th ed., Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2008, p. 115–135.
- Lockhart P.B. and Sonis S.T. Alterations in the oral mucosa caused by chemotherapeutic agents. A histologic study. *J. Dermatol. Surg. Oncol.*, 1981, v. 7 № 12, p. 1019–1025.

20. Loe H., Karring T. and Hara K. The site of mitotic activity in rat and human oral epithelium. *Scand. J. Dent. Res.*, 1972, v. 80, p. 111–119.
21. Logan R.M. The role of proinflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. PhD Thesis, The University of Adelaide, Australia, 2008.
22. Logan R.M., Gibson R.J., Sonis S.T. and Keefe D.M.K. Nuclear factor-kappaB (NFκB) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in the oral mucosa following cancer chemotherapy. *Oral Oncol.*, 2007, v. 43, p. 395–401.
23. Lundqvist C., Baranov S., Teglung S. et al. Cytokine profile and ultrastructure of intraepithelium gamma delta T cells in chronically inflamed human gingiva suggest a cytotoxic effector function. *J. Immunol.*, 1994, v. 153, p. 2302–2312.
24. Morvan F.O., Barouk B., Ledoux D. et al. An engineered biopolymer prevents mucositis induced by 5-fluorouracil in hamsters. *Am. J. Pathol.*, 2004, v. 164, p. 739–774.
25. O'Morchoe P.J., Lee D.C. and Kozak C.A. Esophageal cytology in patients receiving cytotoxic drug therapy. *Acta Cytol.*, 1983, v. 27, № 6, p. 630–634.
26. Peterson D.E. and Cariello A. Mucosal damage: a major risk factor for severe complications after cytotoxic therapy. *Semin. Oncol.*, 2004, v. 31 (3 Suppl. 8), p. 35–44.
27. Schubert M.M., Epstein J.B. and Peterson D.E. Oral complications of cancer therapy. In: *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*. 4th ed. St. Louis, Mosby-Year Book Inc., 1998, p. 644–655.
28. Schubert M.M., Williams B.E., Lloid M.E. et al. Clinical assessment scale for the rating of oral mucosal changes associated with bone marrow transplantation. Development of an oral mucositis index. *Cancer*, 1992, v. 69, № 10, p. 2469–2477.
29. Sloan P., Picardo M. and Schor S.L. The structure and function of oral mucosa. *Dental Update*, 1991, v. 18, № 5, p. 208–212.
30. Thompson P.J., McGurk M., Potten C.S. et al. Tritiated thymidine and bromodeoxyuridine double-labelling studies on growth factors and oral epithelial proliferation in the mouse. *Arch. Oral Biol.*, 1999, v. 44, № 9, p. 721–734.

Поступила в редакцию 09.10.10

MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF ORAL MUCOSAL EPITHELIUM AFTER TREATMENT WITH A CYTOSTATIC DRUG

I.V. Leontieva and V.L. Bykov

The effect of cytostatic drug cyclophosphamide (CY) on lingual epithelium was studied in 90 female mice using histological, morphometric, quantitative histochemical and immunohistochemical methods. CY (400 mg/kg) was injected intraperitoneally three times with a 48 h interval. Material was obtained 2 days after injections and 10–20 days after their discontinuation. CY treatment was shown to result in the damage of both surface epithelium of the tongue and the epithelium of minor lingual salivary glands. Damage to the surface epithelium was more pronounced on the ventral surface of the tongue and was associated mainly with the disturbances of its proliferation. Changes were less severe on the dorsal surface and were seen as the disturbances of epithelial differentiation and desquamation. Glandular epithelium was damaged to a lesser extent than the surface one, with serocytes being more sensitive to the cytotoxic injury than mucocytes. After cytostatic drug discontinuation, the tendency for the normalization of the epithelial characteristics was noted. Most persistent changes in the surface epithelium were found on the dorsal surface of the tongue and in the glandular epithelium — in the serous secretory portions of the salivary glands.

Key words: *oral cavity, surface epithelium, minor salivary glands, cyclophosphamide*

Department of Histology, Cytology and Embryology, I.P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg