

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СОРБЕНТОВ КАК ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА ДЛЯ МЕСТНОЙ ТЕРАПИИ КАНДИДОЗНОГО СТОМАТИТА

А.А. КОПЫТОВ Л.А. ДЕЙНЕКА Н.Н.
ШИНКАРЕНКО В.А. БОРОЗЕНЦЕВА
М.Ю. ИГИШЕВА *Белгородский
государственный национальный
исследовательский университет e-mail:
Kopytov@bsu.edu.ru*

Отсутствие жалоб со стороны лиц, продолжительное время пользующихся съёмными протезами, приводит к тому, что в случае возникновения кандидоза антимикотическая терапия начинается с обретением заболевания хронической формы течения или не проводится вообще. Неэффективность ранней диагностики кандидоза связана с недостаточностью профилактической работы стоматологов, что выражается в слабой мотивации пациентов к профилактическим осмотрам. В свою очередь обретают достаточную значимость неконтролируемые: антибактериальная терапия и иммунодепрессивные состояния, обуславливающие микотическую уязвимость данной социальной группы. Следовательно, с целью упреждения развития кандидозного стоматита целесообразна разработка лечебно-профилактических составов с желаемым синергизмом эффективности и экологичности. Ключевые слова: съёмный протез, кандидоз, местное лечение, сорбент, глина.

Неотъемлемой чертой развития мирового рынка стоматологических услуг является факт повышения обращаемости населения, страдающего социально значимыми хроническими заболеваниями, в лечебные учреждения. Это объясняется тем, что патогенная и условно-патогенная микрофлора, в большинстве случаев, обретает полихимиорезистентность в связи с нерациональным использованием лекарственных препаратов, при этом возможно проявление инволюционного иммунодефицита как системного, так и местного характера [17]. За последнее десятилетие во всех экономически развитых странах заметно увеличилось количество больных, страдающих кандидозом. Чаще стали встречаться торпидные, рецидивирующие формы заболевания, с учётом социально-экономической динамики развития кандидоз относят к «болезням будущего» [3]. Съёмными пластинчатыми протезами, в различных возрастных группах пользуются от 35 - 72% населения, и по данным различных авторов у трети этих пациентов диагностируется кандидозный стоматит. Однако, в клинике ортопедической стоматологии комплексной профилактике кандидоза не уделяется специального внимания, не смотря на то, что его развитие обусловлено различной степенью иммунодефицита состояния, достаточно распространённого в настоящее время. Поскольку мероприятия, корригирующие общесоматический и иммунный статус пациента, не входят в компетенцию стоматолога-ортопеда, то в случае диагностики кандидозного стоматита врачом, как правило, рекомендуется не всегда оправданное применение актиномикотиков. Несмотря на увеличивающееся внимание государства (социума) к профилактической медицине, и повсеместное проведение лечебными учреждениями стоматологического и общесоматического профиля комплексных профилактических мероприятий, обращает на себя внимание устойчивая тенденция к росту числа пациентов, для лечения и реабилитации которых назначается значительное медикаментозное нагружение. По мнению [16], рассматривающего аспекты адекватности проводимой терапии с медико-экологической точки зрения, существует противоречивое мнение в отношении целесообразности назначения антимикотических препаратов больным с наличием факторов риска развития кандидоза, опасаясь возрастания резистентности грибов в процессе неоправданного использования препаратов. С точки зрения «химического воздействия» антимикотические препараты можно классифицировать по мишеням их действия в/на клетке гриба. Такие классы включают: полиеновые антибиотики, аналоги нуклеозида

(фторированные пиримидины), азолы, пневмокандины-эхинокандины, прадимицины-бенаномидины, никкомицины, аллила-мины и тиокарбаматы, сордарины и др. [21]. Причем, учитывая значительные достижения в области создания синтетических лекарственных препаратов нового поколения в последнее десятилетие отмечается все более возрастающий интерес к природным, «физическим», не отягощённым химизмом, экологическим медикаментозным средствам [1]. Этот интерес обеспечивается: во-первых, специфическими особенностями физических факторов разрабатываемых средств позволяющих реализовать биологический и лечебно-профилактический потенциал в месте воздействия, и тем самым оказывать корригирующее воздействие на локальные патологические процессы [8, 9]; во-вторых, данная категория средств, оказывая тренирующее воздействие, повышает резервные возможности организма человека, и активизируют системные саногенетические процессы [2]; в-третьих, как правило, в процессе терапии основанной на применении экологических средств не характерно развитие побочных (аллергических) эффектов, которые возможны при иных видах лекарственной терапии [13].

Всем перечисленным особенностям соответствуют препараты, содержащие в своём составе глинистые минералы. В настоящее время широко применяются глиносодержащие препараты, на основе диоктаэдрического смектита, «Смекта» Ipsen pharma, (Франция), «Неосмектин» Фармстандарт-Лексредства (Россия). Их используют как энтеросорбенты обладающие мукоцитопротективным действием. Мукоцитопротективный эффект диоктаэдрического смектита обусловлен его способностью защищать слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, образуя поливалентные связи с гликопротеидами слизи, связываясь с поврежденными участками, восстанавливая целостность надэпителиального слизистого слоя, увеличивая его массу, вязкость и защитные свойства [7, 11]. Так же известны работы описывающие синергизм действия глин и бактерицидного потенциала антоцианов [19, 20]. Оптимальное сочетание эколого-фармакологических свойств глинистых минералов даёт основания предположить возможность расширения традиционного взгляда на роль сорбентов в местном лечении кандидоза полости рта пациентов, пользующихся съёмными протезами. Нынешний этап научно-предпринимательской деятельности характеризуется повышением социальной ответственности хозяйствующих субъектов, согласно которой, экологический подход выступает одним из главенствующих факторов в процессе принятия управленческих решений. Ставя целью снижение зависимости государства от импортной продукции целесообразно, кроме проведения научно-исследовательских работ и открытия лечебных учреждений, реализовывать мероприятия предусматривающие стимулирование и развитие производства соответствующего спектра лекарственных и профилактических препаратов. Для достижения объема 50% лекарственного рынка России, за счет отечественного производства, необходимо увеличение в 7 раз объемов производства отечественных фармацевтических предприятий [10]. **Цель исследования.** Повышение эффективности профилактики и комплексного лечения кандидоза полости рта путём оптимизации экологически ориентированного местного лечения, основанного на сорбционной активности глинистых минералов. **Задачи:** 1. Определить бактерицидную активность глины месторождения «Маслова Пристань» Белгородской области для обоснования возможности включения глинистых минералов в перечень ингредиентов антимикотических препаратов; 2. Изучить клиническую эффективность водной суспензии глины месторождения «Маслова Пристань» для местной терапии, кандидоза полости рта лиц, со стабильным иммунным статусом, пользующихся съёмными пластинчатыми протезами.

Материалы и методы. В процессе исследования использовали, требующую подготовки, природную глину месторождения "Маслова Пристань" Белгородской области, содержащую значительное количество карбонатных пород. На первом этапе подготовки глины удаляли карбонаты: к 100 г глинистого минерала добавляли небольшими порциями соляную кислоту (1:1) до полного прекращения выделения углекислого газа. На втором этапе, с целью отделения водорастворимых солей и получения тонкодисперсной фракции глины проводили отмучивание. Для этого добавляли 500 мл дистиллированной воды, хорошо перемешивали в течение 2-3 минут полученную взвесь оставляли на 24 ч. Воду с осадка сливали декантацией,

удаляя большую часть водорастворимых со-лей. К остатку добавляли новую порцию дистиллированной воды (500 мл), тщательно перемешивали и оставляли на 0.5 ч. Верхнюю часть взвеси декантировали в сосуд для от-стаивания тонкодисперсной глины. Через 5-6 часов воду отделяли от осадка декантацией, а осадок высушивали при 80оС. На третьем этапе активировали глину путём обработки 0,1 н раствором соляной кислоты. Для этого к высушенному осадку добавляли 200 мл 0,1 соляной кислоты, перемешивали и выдерживали 24 часа. Через 24 часа соляную кислоту сливали методом декантации, промывали небольшим количеством воды и высушивали глину при 80оС. Высушенный материал растирали в порошок в фарфоровой ступке и просеивали через сито 0.1 мм. На завершающем этапе готовились навески 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 грамм. С учётом то что, *Candida albicans* - нормальный комменсал желудочно-кишечного тракта, и нарушения биоценоза полости рта или резистентности организма могут приво-дить к развитию заболевания, для проведения микробиологического исследования, нами был произведен забор образцов биопленки зубодесневой борозды добровольца, не стра-дающего стоматологической патологией. Накопление микроорганизмов рода *C. albicans* осуществлялось путём посева мате-риала в чашки Петри со средой Сабуро. Засеянные среды инкубировали в термостате при 37°С. Идентификация выделенных микроорганизмов проводилась на основании морфо-логических, культуральных, биохимических и антигенных признаков в соответствии с классификацией Берджи [15]. Колонии *C. albicans* на агаре Сабуро беловато-кремовые, блестящие. Отличительными особенностями *C. albicans* являются: способность фермен-тировать глюкозу и мальтозу до кислоты и газа; при культивировании при температуре 22-25 °С по мере истощения глюкозы (на 4-7 сутки) образовывать хламидиоспоры. Полу-ченный материал окрашивали по Граму. Микроскопические исследования проводили с использованием микроскопа Ломо Микмед. В препаратах обнаружены цепочки удлинен-ных клеток, образующими псевдомицелий. Непосредственно перед экспериментом препарат обогащенной глины перемешивали со стерильной дистиллированной водой, и добавляли в агар Сабуро. В исследовани-ях использовали следующие концентрации: 10 мг, 25 мг, 50 мг и 75мг на 1 мл субстрата. В контрольную чашку со средой Сабуро глину не добавляли. Привой, содержащий 10⁶ грибов *C. albicans* в 1 капле, переносился на поверхность агара инокулятором Стирса. Инкубация посевов и контрольных субстратов, не содержа-щих глины, проводилась в течение 24 часов при температуре 37°С. а затем - ещё 24 часа при комнатной температуре (до 5 суток). Плотность популяции определяли путем подсчета микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1 Плотность популяций (log КОЕ/мл) грибов *C. albicans* в зависимости от весовой доли глины

№ чашки Петри	1	2	3	4	5
Концентрация обогащенной глины (мг/мл)	0 - кон-троль	10	25	50	75
Количество микроорганизмов log КОЕ/мл	3,86*10 ²	3,8*10 ²	8,3*10 ¹	1	0

В контрольной чашке 1, без добавления глины и в чашке 2 с концентрацией глины 10 мг/мл отмечался практически одинаковый рост колоний грибов *C. albicans* 3,86 *10² и 3,8*10² соответственно. В чашке с концентрацией глины 25 мг/мл отмечалось снижение числа колоний 8,3*10¹ в чашке с концентрацией 50 мг/мл – визуализировалась 1 колония, с концентрацией 75 мг/мл роста не отмечалось (рисунок).

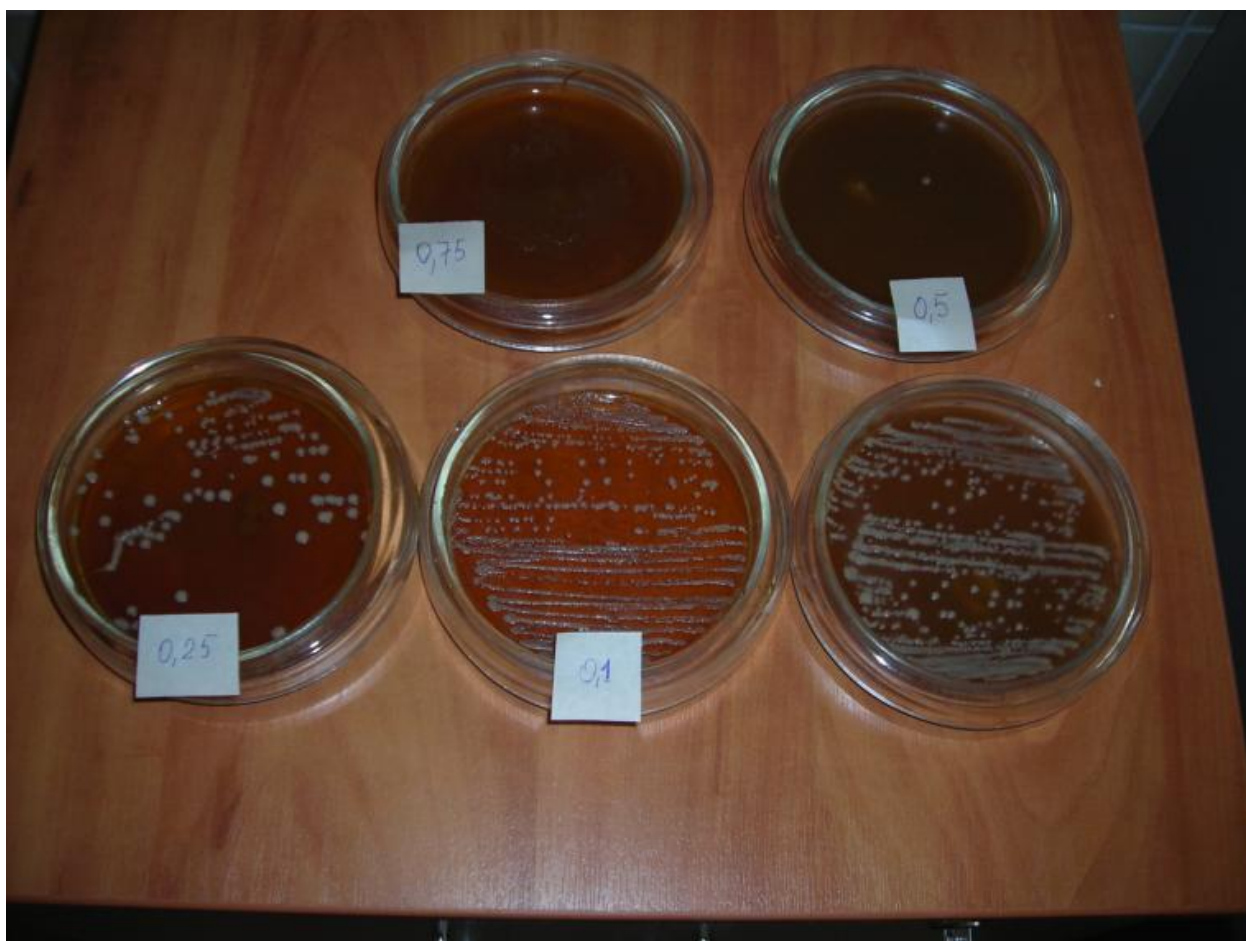


Рис. Чашки Петри с различной плотностью колоний *C. albicans*, зависящей от концентрации, внесённой в среду Сабуро активированной глины. Для решения второй задачи, формировали группу из лиц в отношении которых целесообразно постановка диагноза «кандидозный стоматит». Стандартом диагностики выступило обнаружение псевдомицелия *Candida* в цитологическом препарате полученном со слизистой оболочки полости рта. По мнению [4, 6] данный подход позволяет не только установить факт наличие гриба, но и отличить кандидоносительство от патологического процесса. При сапрофитии в препаратах встречаются единичные непочкующиеся клетки, а при микозе обнаруживается большое количество дрожжеподобных, почкующихся и вегетирующих форм гриба – 15 и более дрожжевых клеток в поле зрения или нити псевдомицелия. В группу вошли мужчины и женщины ($n=33$) в возрасте 37 - 66 лет, пользующихся съёмными пластинчатыми протезами более двух лет. Добровольцы отрицали работу на предприятиях производящих химически активные вещества, в последние два года длительное употребление антибактериальных препаратов, в настоящее время не курящие, с благоприятным, по их мнению, эндокринологическим и онкологическим анамнезом. Внятных жалоб характерных для кандидозного стоматита пациенты не предъявляли, некоторые из них периодически отмечали сухость во рту. При осмотре полости рта у всех пациентов в пределах протезного ложа выявлялись гиперемизированные участки слизистой оболочки. У 6 пациентов (18%) диагностировался ангулярный хейлит, 22 (66%) атрофия сосочков языка. В процессе проведения лабораторных исследований выяснилось что активность адгезии *C. albicans* на буккальные эпителиоциты, в данной группе пациентов, составила $71,1 \pm 1,9$ %; при интенсивности адгезии $275 \pm 12,6$ усл.ед; адгезионном числе $5,09 \pm 0,3$ усл.ед. Количественные изменения факторов обеспечивающих неспецифический иммунитет полости рта обследуемых определялись увеличением: провоспалительного цитокина ИЛ-1 β до $201,01 \pm 10,3$ пг/мл; противовоспалительного цитокина

ИЛ-4 до 25, $3 \pm 4,8$ пг/мл; α -ФНО – $437,9 \pm 14,3$ пг/мл; ИФ- γ – до $246,6 \pm 8,5$ пг/мл. Показатели местного иммунитета изменились следующим образом: содержание лизоцима в ротовой жидкости снижением до $2,1 \pm 0,3$ пг/мл; IgA до $0,4 \pm 0,02$ г/л, при увеличении IgA и IgG до $0,17 \pm 0,03$ и $0,23 \pm 0,8$ г/л соответственно. На основании выше перечисленных данных пациентам был установлен диагноз хронический атрофический кандидозный стоматит. После чего методом рандомизации пациенты были разделены на две сопоставимые по клинико-функциональным характеристикам группы (табл. 2).

Таблица 2 **Распределение пациентов (n = 33) по группам**

	35-45	45-55	Старше 56
Основная группа	6	8	2
Контрольная группа	5	10	2
Всего	11	18	4

В основную группу (ОГ) включили 16 человек, которым было предложено ежедневно, после принятия пищи, ополаскивать съёмные протезы суспензией глины и делать ротовые ванночки после стандартно выполняемых гигиенических мероприятий трижды в день в течении двух минут. Для чего пациентам выдавался 1 литр суспензии с концентрацией глины 750 мг/мл, которую перед проведением гигиенических процедур необходимо было разбавить 10 раз для получения суспензии с концентрацией глины 75 мг/мл. 17 пациентам контрольной группы (КГ), предложили местное лечение кандидоза антисептиками с антифунгиальным действием, в том же режиме, применяя первую и третью недели марганцево-кислый калий в разведении 1:5000, во вторую - 0,2% хлоргексидина биглюконат. Смена препаратов обусловлена тем, что, по мнению [18] к местным антисептикам достаточно быстро развивается устойчивость микроорганизмов, поэтому рекомендуется их еженедельное чередование. Кроме того, пациентам обеих групп было предложено ограничить приём продуктов содержащих углеводы и увеличить потребление кисломолочных продуктов, создавая условия для предотвращения брожения и восстановления биоценоза пищеварительного тракта. По окончании местного лечения всем добровольцам повторно определяли статус полости рта. Адгезивная активность *C. albicans* снизилась в обеих группах и составила в ОГ $61,3 \pm 3,1\%$, в КГ $62,8 \pm 3,5\%$; интенсивности адгезии в ОГ соответствовала $156 \pm 7,6$ усл.ед., в КГ $174 \pm 9,1$ усл.ед., адгезивное число уменьшилось до $4,02 \pm 0,2$ усл.ед. в ОГ и до $4,18 \pm 0,3$ усл.ед. в КГ (табл. 3).

Таблица 3 **Индексная оценка адгезии *C. albicans* на буккальных эпителиоцитах***

	Адгезивная активность %	Интенсивность адгезии усл. ед.	Адгезивное число усл. ед.
До лечения	$71,1 \pm 1,9$	$275 \pm 12,6$	$5,09 \pm 0,3$
Контрольная группа	$62,8 \pm 3,5$	$174 \pm 9,1$	$4,18 \pm 0,3$
Основная группа	$61,3 \pm 3,1$	$156 \pm 7,6$	$4,02 \pm 0,2$

* $p < 0,001$.

Оценка показателей гуморального иммунитета ротовой жидкости, в обеих группах, после курса проведённой местной терапии показала, что при общей положительной динамике конечные результаты иммунного ответа значительно отличаются от нормы. Что вполне закономерно, при отсутствии общего лечения (табл. 4). Несколько худший статус гуморального иммунитета среди пациентов контрольной группы, можно отнести к выраженному химическому воздействию применяемых антисептиков, суммирующих микробное повреждение эпителия с химическим повреждением. На это указано в работах [12, 18] показывающих, что недостаткам данной группы препаратов относят раздражающее действие на слизистую оболочку и относительно невысокий

уровень антимикотической активности. Разработка современных ополаскивателей – медицинских средств не механическим путём обеспечивающих поддержание гомеостаза полости рта в настоящее время достаточно актуально, поскольку они выполняют целый ряд функций: улучшают очищение поверхностей зубов, предупреждают образование зубного налета, дезодорируют полость рта, содержат различные биологически активные компоненты, способствующие профилактике и лечению стоматологических заболеваний [5, 14].

Таблица 4 Изменение показателей гуморального иммунитета в ротовой жидкости

Показатели	До лечения	После лечения		Норма
		Контрольная группа	Основная группа	
ИЛ-1β пг/мл	201,01±10,3	164, 58±7,1	149, 67±7,8	101,0±8,9
ИЛ-4 пг/мл	25, 3±4,8	24,61±4,1	23, 82±4,2	15,7±2,9
α-ФНО пг/мл	437,9±14,3	296,45±13,58	249,71±11,56	135,4± 9,3
ИФ-γ пг/мл	246,6± 8,5	158, 57± 6,2	113,69± 5,9	43,2±6,8
лизоцим пг/мл	2,1±0,3	2,8±0,3	3,1±0,3	4,2±0,7
sIg A г/л	0,4±0,02	0,43±0,02	0,45±0,02	0,55±0,06
IgA г/л.	0,17±0,03	0,16±0,03	0,16±0,03	0,12±0,02
IgG г/л	0,23±0,8	0,18±0,5	0,15± 0,5	0,09±0,04

Выводы

1. Местное применение сорбентов пациентами, длительно пользующихся съёмными пластинчатыми протезами, снижает адгезионный потенциал *C. albicans* на буккальных эпителиоцитах, при высоких значениях показателей гуморального иммунитета в ротовой жидкости, что свидетельствует о возможности применения сорбентов с целью профилактики развития кандидоза полости рта, а так же обязательном общесоматическом и иммуномодулирующем лечении в случае развившегося кандидоза.
2. Предложенная композиция активным компонентом, которой выступает глина месторождения «Маслова Пристань» вполне удовлетворяет современным требованиям медицинской экологии демонстрируя достаточный клинический эффект выражающийся в антимикотическом действии не уступающим традиционным препаратам местного действия, что обуславливает дальнейшие исследования клинических характеристик с целью последующей коммерциализации композиции.

Литература

1. Блинова О.А. Теоретические и экспериментальные аспекты создания лекарственных средств на основе сырья природного происхождения // автореф. дисс. ... д.фарм.н. Пермь. 2009. 43с.
2. Бобровницкий И.П., Нагорнев С.Н., Рыгина К.В., Чаплыгин А.А., Сурков А.В.. Эффективность использования немедикаментозной терапии и оценка межсистемных связей функциональных резервов организма и пародонтального статуса у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. - № 6. – 2009. – С.30-34.
3. Железняк В.А. Антиоксидантная терапия в комплексном лечении кандидоза полости рта. Автореф. ... дис. к.м.н. Москва. – 25с.
4. Затолока П.А., Доценко М.Л. Орофарингеальный кандидоз. Клинические и лечебные аспекты проблемы // Военная медицина 2009 №3 С.62-66.
5. Лапатина А. В. .Кл-лаб. Оценка эффективности применения ополаскивателей полости рта у пациентов с гингивитом Москва 2010 26.
6. Лещенко В. М. Лабораторная диагностика грибковых заболеваний / В.М. Лещенко. М.: Медицина, 1982.-142с/
7. Маев И.В., Самсонов А.А., Голубев Н.Н. Аспекты клинического применения энтеросорбента Неосмектин//Российский медицинский журнал 2008 №2. –С.62.
8. Миненков А. А., Филимонов Р. М.Основные принципы и тактика озонотерапии (Пособие для врачей) / Миненков А., Филимонов Р. М. и др. М.; 2001 18с.;
9. Михайленко Л.В. Комплексное применение фитотерапии и минеральных вод для коррекции метаболического синдрома на этапе санаторно-курортного лечения автореф. дисс. ... д.м.н. Москва. 2011. 48с.
10. Пятигорская Н.В. Исследования и методологические подходы создания современных фармацевтических предприятий Российской Федерации // автореф. дисс. ... д.фарм.н. Москва. 2011. 47с.

11. Сапего А.В. Эффект энтеросорбции при заболеваниях желудочно–кишечного тракта, сопровождающихся дисбактериозом (клинико–экспериментальное исследование). Автореф. дисс. канд. мед. наук. – СПб., 1994. – 18с.
12. Сергеев, А. Ю. Грибковые инфекции / А. Ю. Сергеев, Ю. В. Сергеев // Руководство для врачей. М.: "Бином-пресс", 2003. 440 с.
13. Стражев С. В. Медицинская реабилитация больных с постмастэктомическим синдромом // автореф. дисс. ... д.м.н. М., 2011. 48 с.
14. Улитовский С. Б. Практическая гигиена полости рта / С. Б. Улитовский. – М., 2002. – 328 с.
15. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П. и др. Определитель бактерий Берджи: Пер. с англ. В 2 т / под. ред., Хоулт Дж., Криг Н., Снит П. и др. Издательство Мир 1997.
16. Шишло И.Ф. к вопросу о роли грибов рода *Candida* при послеоперационном перитоните у онкологических больных. // *Ars medica* 2010 №1 (21) С. 124-130.
17. Ярёмченко А.И. лечение и профилактика инфекционно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области у пациентов старших возрастных групп. Автореф. ... дис. д.м.н. С. Петербург 2007. – 37 с.
18. Calderone, R.A. Virulence factors of *Candida albicans* / R.A. Calderone, W.F. Fonzi // *Trends Microbiol.* 2001. № 9. P. 327–335.
19. Olivella S.M., Zarelli V.E.P. et al. A comparative study of bacteriostatic activity of synthetic hydroxylated flavonoids//*Brazilian Journal of Microbiology* – 2001. – V.32. – P. 229-232.
20. Pratt D.E., Powers J.J., Spmaatmadja D. Anthocyanins. I. the influence of strawberry and grape anthocyanins on the growth of certain bacteria // *J. Food Sci.* – 1960. – V.25. – P.26-32.
21. Vanden Bossche H., Marichal P., Odds F. Molecular mechanisms of drug resistance in fungi// *Trends Microbiol.*–1994.–Vol.2.–P.393-400.

STUDY THE POSSIBILITY OF USING SORBENTS AS THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC AGENT FOR TOPICAL TREATMENT THRUSH

**A.A. KOPYTOV L.A. DEYNEKA N.N.
SHINKARENKO V.A. BOROZENTSEVA M.A.
IGISHEVA *Belgorod National Reserch University*
e-mail: Kopytov@bsu.edu.ru**

The absence of complaints from people for a long time using removable dentures leads to the fact that in the case of candidiasis antimycotic therapy begins with the acquisition of the chronic form of the disease course or not done at all. Not the effectiveness of early diagnosis of candidiasis is connected to the lack of preventive dental work, resulting in poor motivation of patients to preventive examinations. In turn, acquire sufficient importance uncontrollable: antibiotic therapy, and immunosuppressive conditions causing mycotic vulnerability of particular social groups. Therefore, in order to forestall the development of thrush develop suitable therapeutic and prophylactic formulations with the desired efficiency and environmental synergy. Key words: dentures, candidiasis, topical treatment, sorbent clay.