

А.В. Шумский,

д.м.н., профессор, зав. кафедрой стоматологии Самарского медицинского института «РЕАВИЗ»

В.А. Железняк,

старший преподаватель кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии Самарского военно-медицинского института

## Коррекция свободнорадикального окисления при лечении кандидоза полости рта

Грибы рода *Candida* являются условно-патогенными микроорганизмами и присутствуют на слизистой оболочке полости рта более чем у половины здоровых людей. Устойчивость к развитию заболевания обеспечивается как общими, так и местными защитными механизмами организма. Развитие же патологического процесса свидетельствует о достаточно существенном сбое механизмов резистентности. Повышенный интерес к кандидозу полости рта обусловлен прежде всего тем, что в последнее время значительно возросла заболеваемость данной патологией [2, 3, 11, 12]. Изменилось проявление кандидоза, уже является закономерным его упорное, рецидивирующее, иногда агрессивное течение. Грибковая инфекция сопутствует многим серьезным заболеваниям и состояниям, усугубляет патологию внутренних органов [4, 15, 16, 18]. Кроме того, лечение микозов остается сложной задачей. Очевидно, это объясняется тем, что кандидоз провоцирует стойкий иммунодефицит.

Кандидоз полости рта является преимущественно поверхностным процессом и в большинстве случаев чаще локализуется в эпителиальном слое слизистой полости рта. В связи с этим понятна важность вопроса о состоянии

эпителиоцитов, а именно их способности обеспечивать устойчивость к агрессии различных микроорганизмов, в том числе и грибов рода *Candida*. Кроме того, обращает на себя внимание тот факт, что ряд факторов, обеспечивающих неспецифический иммунитет полости рта, претерпевает существенные изменения. Нами было отмечено снижение содержания в ротовой жидкости лизоцима, уменьшение содержания sIgA.

При биохимическом исследовании слюны у больных кандидозом полости рта было выявлено недостаточное содержание лизоцима до  $1,1 \pm 0,2$  пг/мл (при норме  $1,64 \pm 0,26$  пг/мл). Очевидно, это объясняется тем, что грибы *Candida* обладают достаточной антилизоцимной активностью [8, 9].

Отмечено, что, кроме того, претерпевали изменения и другие важные гуморальные факторы. Эпителиальные клетки, пораженные кандидотоксинами, медленнее продуцировали протективный фактор для образования sIgA [5, 8, 21]. Содержание sIgA в слюне снижалось до  $165,0 \pm 15,6$  пг/мл и было почти в 2 раза ниже среднего значения нормы 250–420 пг/мл.

К тому же обращало внимание увеличение содержания в полости рта других

микроорганизмов, сопутствующих кандидозному процессу, что существенно усугубляет дефицит местного иммунитета [2, 12].

Проведенное нами изучение цитологической картины выявило нарушение процесса дифференцировки поверхностных и подповерхностных эпителиальных клеток. Патологический процесс, развивающийся при кандидозе полости рта, происходит в эпителиальном слое [8]. Анализ микроскопических данных позволил выявить нарушения процесса созревания эпителиоцитов у больных кандидозом полости рта. При этом отмечалось снижение количества поверхностных эпителиоцитов до  $39,1 \pm 3,7\%$ , а это почти в 1,7 раза меньше нормы ( $67,8 \pm 8,4\%$ ) (рис. 1). Для зрелых поверхностных эпителиоцитов характерна желтая цитоплазма, темные, продолговатые ядра. Резкое снижение их количества свидетельствовало о серьезном нарушении пластической функции слизистой полости рта и как следствие снижении ее барьерных свойств [1, 13]. Существенно (до  $18,9 \pm 5,5\%$ ) было повышено количество зернистых эпителиоцитов, имеющих желтую цитоплазму с небольшими зелеными вкраплениями, что практически

в 10 раз превышало норму ( $1,9 \pm 0,9\%$ ). Значительное количество клеток с незавершенным процессом созревания могло свидетельствовать об их преждевременном апоптозе. Возросшее до  $14,1 \pm 5,1\%$  количество шиповатых клеток, имеющих зеленую цитоплазму, овальные ядра с хорошо структурированным хроматином, в 2 раза превышало норму  $8,8 \pm 3,2\%$  и, вероятнее всего, являлось защитной реакцией слизистой оболочки на внедрение инфекции. Количество парабазальных клеток, имеющих зеленую цитоплазму и овальные ядра, как у базальных клеток ядра, в норме составляет  $28,0 \pm 4,1\%$ . Отмечалось значительное уменьшение их количества до  $9,7 \pm 6,4\%$ , что было практически в 3 раза меньше нормы и подтверждало существенное снижение регенераторного потенциала.

Эпителиоциты обладают выраженной регенераторной способностью, но в условиях инфекционного процесса происходит нарушение дифференцировки эпителиоцитов. Этому способствует мощный натиск инфекционных токсинов [14], нарушение микроциркуляции, недостаток витаминов, а также чрезмерное образование свободных радикалов. Указанные изменения вероятнее всего были связаны с замедлением процессов созревания эпителиоцитов полости рта и являлись результатом влияния кандидотоксинов. Они свидетельствовали о серьезном нарушении дифференцировки эпителиальных клеток и обусловили включение в базовую терапию кандидоза полости рта средств, нормализующих состояние эпителия слизистой оболочки.

Свободнорадикальное окисление в норме непрерывно протекает в тканях организма и при определенных условиях интенсивности является элементом нормальных метаболических процессов. Свободные радикалы являются инструментом уничтожения микроорганизмов фагоцитами [17], стимулируют активность ферментов в окислительно-восстановительных реакциях. Свободнорадикальные реакции обеспечивают обновление липидов биологических мембран, их адаптацию к изменяющимся условиям функционирования. Процесс свободнорадикального окисления является важным звеном в регулировании проницаемос-

ти и транспорта веществ через мембраны [7].

Но, учитывая высокую активность его компонентов и побочных продуктов, данные окислительные реакции должны протекать на определенном стационарном уровне, обеспечивающем функциональную стабильность структур организма. Чрезмерная активизация процессов перекисного окисления липидов провоцирует повреждение мембран клеток. При этом происходит разрыхление липидного бислоя мембран, что делает более доступным для протеаз их белковые компоненты [19]. Кроме того, наблюдаются конформационные изменения фосфолипидов и липопротеидов, в результате чего нарушаются их ферментативные функции. Происходит нейтрализация и разрушение веществ, обладающих антиоксидантной активностью. Нарушается функционирование мембранных ионных каналов, приводящее к повреждению клеток [7].

Ситуация осложняется тем, что грибы рода *Candida* имеют собственную антиоксидантную систему [20], что провоцирует затяжной характер свободнорадикальных реакций, направленных против данной инфекции. Побочным эффектом данного процесса является чрезмерное воздействие свободных радикалов на собственные ткани организма. В этих условиях необходимо достигнуть стабилизации клеточных мембран, нормализовать функционирование эпителиоцитов, повысив тем самым резистентность слизистой полости рта.

Данный эффект можно достигнуть путем активации антиоксидантных систем. В настоящее время доказано нормализующее влияние перекисного окисления липидов и антиоксидантов на процессы регенерации. Нормализация антиоксидантной активности спо-

собствует повышению резистентности слизистой полости рта [7].

Необходимо отметить, что любая воспалительная реакция сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов, нарушением структуры мембран клеток, в том числе и эпителиоцитов полости рта [6, 13]. Это приводит к ослаблению защитной функции слизистой оболочки.

Нами проведено исследование выраженности окислительно-восстановительных процессов при кандидозе полости рта. В результате было определено повышенное содержание малонового диальдегида в слюне —  $5,34 \pm 0,31$  ммоль/л (при норме  $2,37 \pm 0,1$  ммоль/л), что подтверждает негативное воздействие перекисного «взрыва» [6, 12].

С учетом полученных результатов исследования нами выполнен комплексный алгоритм лечения больных кандидозом полости рта. Больным контрольной ( $n=52$ ) и основной ( $n=72$ ) групп проводилась санация полости рта с целью устранения очагов инфекции; осуществлялась фунгицидная терапия, включавшая в себя Дифлюкан по 50 мг 1 раз в день № 6 [10]; применялся гель Холисал в качестве антисептического средства, воздействующего как на грибковую, так и на бактериальную флору.

Больным основной группы ( $n=72$ ) в дополнение к вышеперечисленному лечению назначали Мексидол по 0,25 г 2 раза в день, рекомендовали для ежедневной гигиены полости рта зубную пасту Мексидол-дента, ополаскиватель «Мексидол». Курс лечения составлял 14–21 день.

Выбор препарата Мексидол обусловлен его антиоксидантным и мембранопротекторным действием. Он инги-

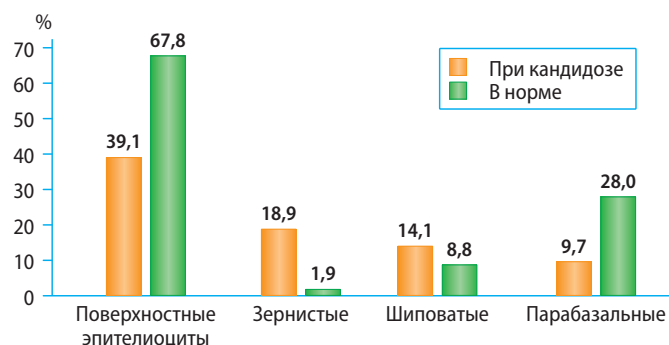


Рис. 1. Характеристика зрелости эпителиоцитов слизистой оболочки при кандидозе полости рта

бирует перекисное окисление липидов, увеличивает активность супероксиддисмутазы, повышает соотношение комплекса липид—белок, уменьшает вязкость мембраны, увеличивает ее текучесть. Мексидол вызывает усиление компенсаторной активации аэробного гликолиза и снижение степени угнетения окислительных процессов в цикле Кребса в условиях гипоксии с увеличением содержания АТФ и креатинфосфата, активацию энергосинтезирующих функций митохондрий, стабилизацию клеточных мембран [6].

У большинства пациентов уже на 11,3±1,5 день в основной группе и на 13,4±1,7 день в контрольной группе наблюдались клинические признаки улучшения. К окончанию курса лечения положительные результаты были достигнуты у 86,5% пациентов контрольной группы и у 94,4% пациентов основной группы. Важно отметить, что наблюдалось улучшение не только состояния слизистой оболочки полости

рта, но и снижение проявлений общих симптомов.

Повышение показателя содержания лизоцима в ротовой жидкости пациентов контрольной группы до 1,19±0,2 пг/мл являлось явно недостаточным для борьбы с грибковой инфекцией (рис. 2). В основной группе этот показатель повысился значительно и составил 1,93±0,3 пг/мл, при норме 1,64±0,26 пг/мл ( $p < 0,05$ ).

Предлагаемый комплекс лечения оптимизирует функциональную активность иммунокомпетентных клеток, в частности нейтрофилов и макрофагов, что подтверждается возрастанием концентрации лизоцима [2, 5, 8].

В основной группе наблюдалось существенное повышение содержания секреторного IgA до 243,9±14,7 пг/мл (рис. 3). В контрольной группе отмечалось незначительное повышение показателей выработки sIgA лишь до 188,3±19,4 пг/мл.

Таким образом, стабилизация эпителиоцитов — основных продуцентов

компонента к sIgA, позволяет получить значительный положительный сдвиг в данном компоненте местного иммунитета.

При проведении цитологического исследования выявлено, что после комплексного лечения в основной группе дифференцировка эпителиоцитов практически соответствовала показателям нормы (см. таблицу). Количество поверхностных клеток составляло 71,4±7,4% ( $p < 0,05$ ), и, что важно, количество парабазальных клеток находилось в диапазоне, соответствующем показателям нормы, и составило 30,1±3,6% ( $p < 0,05$ ). Количество зернистых клеток в основной группе также оказалось более приближенным к норме — 3,1±0,9% ( $p < 0,05$ ). Уровень шиповатых клеток стал даже несколько ниже стандартного уровня — 7,4±2,9% ( $p < 0,05$ ).

В свою очередь в контрольной группе после курса лечения, несмотря на положительную тенденцию, показатели дифференцировки эпителиоцитов были еще далеки от нормы (см. таблицу). Количество поверхностных эпителиоцитов составило 54,5±6,8% ( $p < 0,05$ ), парабазальных клеток — 21,3±3,8% ( $p < 0,05$ ), зернистых клеток — 6,3±2,2% ( $p < 0,05$ ), что значительно больше нормы. Количество шиповатых клеток практически достигало уровня нормы и составило 9,6±3,7% ( $p < 0,05$ ). Это свидетельствует о том, что в эти сроки еще нарушена дифференцировка эпителиоцитов, не восстановлена пластическая функция слизистой полости рта.

Таким образом, можно отметить, что Мексидол, стабилизируя окислительно-восстановительные реакции в структурах клеток, оказывает нормализующее влияние на процесс дифференцировки эпителиоцитов, тем самым обеспечивает устойчивость слизистой оболочки к воздействию грибов рода *Candida*.

Анализ интенсивности процессов перекисного окисления липидов в процессе лечения показал, что применение Мексидола позволило добиться более быстрого снижения содержания малонового диальдегида в ротовой жидкости пациентов (рис. 4). Его уровень у пациентов основной группы уже к 9-м суткам от начала лечения составлял 3,01±0,3 ммоль/л, а к 12-м суткам он практически достигал показателя нормы.

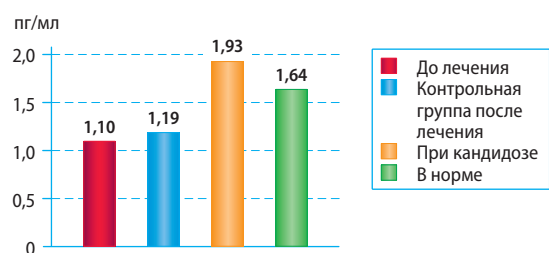


Рис. 2. Содержание лизоцима в слюне

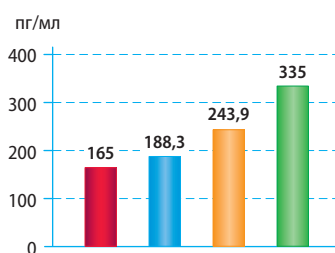


Рис. 3. Содержание секреторного иммуноглобулина А

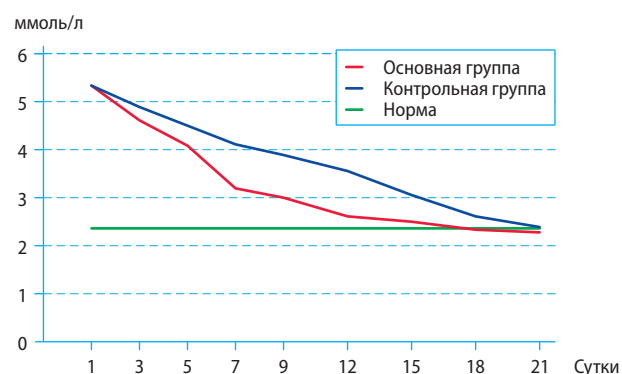


Рис. 4. Динамика содержания малонового диальдегида в ротовой жидкости

#### ПОКАЗАТЕЛИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ПОЛОСТИ РТА

Вид клеток	До лечения	После лечения		Норма
		Контрольная группа	Основная группа	
Поверхностные	39,1±3,7	54,5±6,8	71,4±7,4	67,8±8,4
Зернистые	18,9±5,5	6,3±2,2	3,1±0,9	1,9±0,9
Шиповатые	14,1±5,1	9,6±3,7	7,4±2,9	8,8±3,2
Парабазальные	9,7±6,4	21,3±3,8	30,1±3,6	28,0±4,1

В контрольной группе содержание малонового диальдегида в слюне снижалось медленнее и к 9-м суткам составило  $3,91 \pm 0,34$  ммоль/л, а к 12-м суткам —  $3,56 \pm 0,4$  ммоль/л и только к 18-м суткам достигало уровня нормы.

Исходя из приведенных данных, можно сделать заключение, что при лечении кандидозной инфекции полости рта для достижения стойкого лечебного эффекта только противогрибковой

терапии недостаточно. Подтверждаются основные принципы терапии кандидоза, которые заключаются в системном подходе к лечению, в необходимости нормализации обмена веществ, повышении резистентности организма [4, 8, 9, 12].

Анализ клинических и лабораторных результатов исследования позволяет сделать вывод, что применение препарата Мексидол в комплексном лечении

кандидоза полости рта способствует нормализации процессов дифференцировки эпителиоцитов, устранению дисбаланса различных защитных факторов ротовой жидкости, что оптимизирует местную резистентность слизистой оболочки полости рта и устойчивость к воздействию различной микрофлоры и грибов рода *Candida*.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. **Боровский Е.В., Леонтьев В.К.** Биология полости рта. — М.: Мед. книга, Н.Новгород: Изд-во НГМА, 2001. — 304 с.
2. **Боровский Е.В., Машкиллейсон А.Л.** Заболевания слизистой оболочки полости рта и губ. — М.: МЕДпресс, 2001. — 320 с.
3. **Горбачева И.А., Шестакова Л.А.** Патогенетическая коморбидность заболеваний внутренних органов и полости рта. — Пародонтология. — 2008. — № 3. — С. 3—5.
4. **Злобина О.А.** Диагностика, лечение и профилактика кандидоза слизистой оболочки полости рта у больных сахарным диабетом. Дис. ... канд. мед. наук. Казань, 2001.
5. **Новиков Д.К.** Патология системы иммунитета. — М.: Национальная академия микологии, 2003. — 368 с.
6. **Петрович Ю.А., Сухова Т.В., Лемецкая Т.И. и др.** Применение препарата Мексидол в стоматологической практике. Учебно-методическое пособие для врачей. — М., 2004. — 65 с.
7. **Подопригорова В.Г.** Оксидативный стресс и язвенная болезнь. — М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2004. — 176 с.
8. **Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В.** Грибковые инфекции. Руководство для врачей. — М.: ООО «Бином-пресс», 2004. — 440 с.
9. **Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В.** Факторы резистентности и иммунитет при грибковых инфекциях кожи и слизистых оболочек. — Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2004. — № 1. — С. 6—14.
10. **Царев В.Н., Ушаков Р.В.** Антимикробная терапия в стоматологии: Руководство. — М.: Медицинское информационное агентство, 2004. — 144 с.
11. **Шумский А.В.** Лимфотропная медикаментозная и иммунокорректирующая терапия в комплексном лечении инфекционно-воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта / Дис. ... д.м.н. — Самара, 1998. — 264 с.
12. **Шумский А.В., Железняк В.А.** Кандидоз полости рта. — Самара, 2008. — 199 с.
13. **Alberts B., Bray D., Lewis J. et al.** Molecular Biology of the Cell. — New York, London: Garland Publishing, 1983.
14. **Atre A.N., Surve S.V., Shouche Y.S. et al.** Association of small Rho GTPases and actin ring formation in epithelial cells during the invasion by *Candida albicans*. — FEMS Immunol Med Microbiol. 2009 Jan; 55 (1): 74—84.
15. **Cannon R.D., Holmes A.R., Mason A.B., Monk B.C.** Oral *Candida*: clearance, colonization, or candidiasis? — J Dent Res. 1995 May; 74 (5): 1152—61.
16. **Chomicz L., Szubińska D., Piekarczyk J. et al.** Occurrence of oral subclinical infections in insulin treated diabetics. — Wlad Parazytol. 2004; 50(2): 177—80.
17. **Frohner I.E., Bourgeois C., Yatsyk K. et al.** *Candida albicans* cell surface superoxide dismutases degrade host-derived reactive oxygen species to escape innate immune surveillance. — Mol Microbiol. 2009 Jan; 71 (1): 240—52.
18. **Fukushima C., Matsuse H., Saeki S. et al.** Salivary IgA and oral candidiasis in asthmatic patients treated with inhaled corticosteroid. — J Asthma. 2005 Sep; 42 (7): 601—4.
19. **Koga-Ito C.Y., Lyon J.P., Vidotto V., de Resende M.A.** Virulence factors and antifungal susceptibility of *Candida albicans* isolates from oral candidosis patients and control individuals. — Mycopathologia. 2006 Apr; 161 (4): 219—23.
20. **Martchenko M., Alarco A.M., Harcus D., Whiteway M.** Superoxide dismutases in *Candida albicans*: transcriptional regulation and functional characterization of the hyphal-induced SOD 5 gene. Mol Biol Cell. 2004 Feb; 15 (2): 456—67.
21. **Morschheuser J., Virkola R., Korhonen T.K., Hacker J.** Degradation of human subendothelial extracellular matrix by proteinase-secreting *Candida albicans*. — FEMS Microbiol Lett 1997 Aug 15 153: 2 349—55.