

УДК 616.3:612.017.1:616.992.282

І.В.Кушніренко

## ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОЇ РЕАКТИВНОСТІ У ПАЦІЄНТІВ З КАНДИДОЗОМ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ВЕРХНЬОГО ВІДДІЛУ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ ПРИ РІЗНІЙ ГЛИБИНІ ЇЇ УРАЖЕННЯ

ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпропетровськ

**Резюме.** При обстеженні пацієнтів із кандидозом слизової оболонки верхнього відділу шлунково-кишкового тракту визначені основні ланки імунітету, зниження активності яких (Т-хелперів та НК-клітин, Ig M та Ig G) зумовлює виникнення і розповсюдження

кандидозного ураження. Інвазія грибів роду *Candida* в слизову оболонку пов'язана з відсутністю активації В-лімфоцитів, Ig A та підвищенням Ig E.

**Ключові слова:** кандидоз, імунітет, слизова оболонка, шлунково-кишковий тракт.

**Вступ.** Проблема кандидозного ураження слизової оболонки (СО) на сьогодні потребує ретельного вивчення, оскільки існує велика кількість питань щодо діагностики, лікування та подальшого перебігу цього стану.

Гриби роду *Candida*, відкриті у 1853 році Ш. Розеном, відносять до умовно-патогенної флори, і є складовою нормального мікробіоценозу організму людини. Реалізація патогенних властивостей відбувається в умовах зниження резистентності макроорганізму, оскільки саме стан макроорганізму має вирішальне значення для характеру розвитку інфекційного процесу за наявності умовно-патогенної флори. Основною складовою системи антифунгальної резистентності є система імунітету людини, адекватне функціонування якої забезпечує баланс між агресивними властивостями мікроорганізму і захистом макроорганізму.

Імунна система СО, зокрема травного каналу, є першим бар'єром на шляху потрапляння мікроорганізму в організм людини, де відбувається первинний його контакт з лімфоретикулярною тканиною органів шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Саме такий шлях потрапляння до організму людини є характерним для грибів роду *Candida*. Первинна колонізація грибами порожнини рота може призвести до колонізації ШКТ і формування резервуара інфекції [4, 7]. У захисті організму від грибів беруть участь обидва ланцюги імунітету – гуморальний і клітинний. Загальновизнаною є важливість Т-клітинної ланки імунітету, оскільки саме особи з первинними або вторинними Т-клітинними імунодефіцитами є найбільш схильними до мікозів, у тому числі до орофарингеального кандидозу. На важливість гуморальної ланки вказують у своїх роботах російські вчені А.Ю.Сергєєв, Т.Н.Лебедева [3, 5], підкреслюючи, що антитіла здатні протистояти адгезії до СО при поверхневому кандидозі та до ендотелію, що запобігає розвитку дисемінації кандидної інфекції. Антитіла майже не забезпечують руйнування грибкових клітин, але блокування адгезії і продукції збудником літичних ферментів має чимале значення в розвитку інфекції.

**Мета дослідження.** Вивчити особливості імунного статусу пацієнтів із кандидозом слизової оболонки верхнього відділу шлунково-кишкового тракту залежно від глибини її ураження.

**Матеріал і методи.** Обстежено 37 пацієнтів, у яких підтвердилось ураження СО грибами роду *Candida*, у тому числі 25 пацієнтів з орофарингеальним кандидозом без інвазії у СО стравоходу і/або шлунка (I група) та 12 пацієнтів з виявленою інвазією у СО верхніх відділів ШКТ (II група). Середній вік пацієнтів I групи становив  $50,7 \pm 2,2$  року, II –  $58,7 \pm 3,9$  року. За статтю в обох групах переважали жінки: у I групі – 80,0 %, у II групі – 83,3 %.

Для зіставлення отриманих даних обстежено 30 здорових осіб, які склали контрольну групу.

Критерієм відбору до обстеження була наявність IV ступеня масивності обсіменіння язика грибами роду *Candida* і /або макроскопічні ознаки кандидозного ураження стравоходу при ендоскопічному обстеженні.

Критеріями для виключення з програми обстеження були: антибактеріальна терапія, що проводилася менше ніж за чотири тижні до цього, захворювання, зумовлені тяжким ступенем імунодефіциту, у тому числі ВІЛ.

Наявність кандидозу визначали шляхом мікробіологічного дослідження зскрібків з язика та біоптатів СО стравоходу, тіла та антрального відділу шлунка, які отримані під час езофагогастродуоденоскопії.

При імунологічному дослідженні мононуклеарні клітини виділяли з периферичної венозної крові пацієнтів у градієнті щільності  $1,077 \text{ г/см}^3$ . Субпопуляційний склад лімфоцитів визначали за допомогою моноклональних антитіл фірми "Сорбент ТМ" до маркерів CD3, CD4, CD8, CD16, CD22 за допомогою лімфоцитотоксичного тесту (стандартний метод NIH, США). Функціональну активність гранулоцитів оцінювали в спонтанному НСТ-тесті за реакцією відновлення нітросинього тетразолію (Park B.H., Fikrig S.M., Smithwick E.M., 1968) [7]. Підрахунок НСТ-позитивних нейтрофілів проводили за методом Васицьова М.К., Шимкевича Е.М., 1964 [2]. Визна-

чення кількісного вмісту Ig класів A, M, G, E у сироватці крові проводили методом кількісного ІФА за допомогою тест-систем ТОВ НВЛ "Гранум" (м. Харків) за рекомендаціями виробника. Концентрацію IgA, IgM та IgG визначали в г/л, IgE – у пг/мл. Вміст IgE у досліджуваних зразках визначали за допомогою каліброваних кривих із значеннями оптичної щільності стандартних зразків.

Статистична обробка результатів досліджень здійснювалася методами варіаційної статистики, реалізованими стандартним пакетом прикладних програм SPSS 13.0 for Windows. Кореляційний аналіз виконували за методом Пірсона та Спірмена, залежно від того, в яких шкалах виражені дані [1].

Усі засоби вимірів, що використані в роботі, пройшли держперевірку у встановленому порядку. Проведені дослідження відповідали етичним нормам Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації перегляду 2008 р.

#### Результати дослідження та їх обговорення.

Порушення клітинного імунітету виявлені у 80,0 % пацієнтів I групи та 83,3 % – II. Характеристика параметрів клітинного імунітету представлена в таблиці 1.

Представлені дані свідчать про відсутність активації запалення в обстежених пацієнтів, оскільки рівень лейкоцитів в обох групах залишався у межах нормальних значень. У 29,7 % хворих виявлений відносний лімфоцитоз, який більше характерний для пацієнтів групи I ( $p < 0,05$ ).

Недостатність Т-клітинної ланки імунітету виявлена в переважній більшості пацієнтів (81,1 %), незалежно від форми кандидозу, що проявлялося зниженням відносної кількості CD3+ клітин на 16,5 % у I групі ( $p < 0,001$ ), на 16,7 % – у II групі ( $p < 0,001$ ).

Кількість лімфоцитів із фенотипом CD4+, які характеризуються хелперною активністю, знижена у 86,5 % осіб, незалежно від форми кандидозу: у I групі – на 34,1 % ( $p < 0,001$ ), у II – на 31,5 % ( $p < 0,001$ ). Саме зі зниженням рівня CD4+ асоціювалася більша глибина ураження СО ШКТ ( $r = -0,43$ ;  $p = 0,03$ ). Вміст Т-супресорів (CD8+) зберігався в межах норми, однак достовірно зниження імунорегуляторного індексу (CD4+/CD8+) на 17,3 % ( $p < 0,05$ ) спостерігалось в пацієнтів I групи.

Важлива роль в антифунгальній імунній відповіді належить натуральним кілерам (NK) – CD16+-клітинам, які здатні до зв'язування з клі-

Таблиця 1

#### Характеристика клітинного імунітету

Показник	Контрольна група (n=50)	I група (n=27)	P між групами I та контрольною	II група (n=12)	P між групами II та контрольною	P між групами I та II
Лейкоцити, $10^9/л$	5,35±0,21	5,5±0,3		4,8±0,3		
Лімфоцити, %	28,7±0,81	34,5±1,8	$p < 0,05$	31,3±3,5		
Лімфоцити, $10^9/л$	1,6±0,07	1,9±0,1		1,5±0,2		
CD3+, %	50,9±1,7	42,5±1,3	$p < 0,001$	42,4±1,5	$p < 0,001$	
CD3+, $10^9/л$	0,7±0,04	0,81±0,05		0,64±0,08		
CD4+, %	38,7±0,5	25,5±0,8	$p < 0,001$	26,5±1,5	$p < 0,001$	
CD4+, $10^9/л$	0,53±0,03	0,49±0,03		0,40±0,06		
CD8+, %	18,39±0,57	17,3±1,1		17,7±2,2		
CD8+, $10^9/л$	0,30±0,02	0,34±0,03		0,26±0,04		
CD16+, %	19,07±0,90	16,1±1,4		16,6±2,2		
CD16+, $10^9/л$	0,31±0,02	0,32±0,04		0,26±0,06		
CD22+, %	14,78±0,48	18,50±1,50	$p < 0,05$	16,00±1,90		
CD22+, $10^9/л$	0,25±0,01	0,37±0,04	$p < 0,01$	0,24±0,03		$p < 0,01$
CD3+/CD22+	2,10±0,19	2,65±0,19	$p < 0,05$	2,94±0,28	$p < 0,05$	
CD4+/CD8+	1,97±0,07	1,63±0,12	$p < 0,05$	1,65±0,20		
НСТ, %	12,03±0,74	19,5±2,2	$p < 0,01$	21,6±2,66	$p < 0,01$	
ЦПА, ум.од.	0,31±0,02	0,32±0,04		0,34±0,07		

Таблиця 2

## Характеристика гуморального імунітету

Показник	Контрольна група (n=50)	I група (n=27)	P між групами I та контрольною	II група (n=12)	P між групами II та контрольною
IgE, пг/мл	176,5±7,6	308,9±134,0		341,5±163,2	
IgA, г/л	2,25±0,26	1,93±0,07		1,86±0,04	
IgM, г/л	1,53±0,10	1,13±0,03	p<0,001	1,22±0,05	p<0,01
IgG, г/л	12,72±0,42	10,60±0,60	p<0,01	9,99±0,71	p<0,001
ЦІК, од.опт.щіл.	3,42±0,23	4,37±0,65		4,06±0,86	

тинами гриба, пригнічувати їх ріст та сприяти знешкодженню інфікованих клітин. Встановлено, що, незважаючи лише на тенденцію до зменшення кількості CD16+-клітин у хворих обох груп, з їх зменшенням зростала кількість локусів виявлення кандидозу, тобто поширення у травному каналі ( $r=-0,44$ ;  $p=0,02$ ).

Особливості функціонування фагоцитарної ланки імунної системи при кандидозі була активація нейтрофілних гранулоцитів, що підтверджується зростанням кількості формазанпозитивних клітин у 62,2 % пацієнтів, незалежно від глибини ураження СО: при неінвазивній формі кандидозу – в 1,6 раза ( $p<0,01$ ), при інвазивній – в 1,8 раза ( $p<0,01$ ). І хоча при цьому кількість НСТ-позитивних клітин збільшена, зниження цитохімічного показника активності (ЦПА) на 45,2 % більше, ніж у половини пацієнтів (56,8 %), свідчить про недостатню потужність фагоцитарної ланки щодо руйнації антигену в клітинах.

Зростання кількості В-лімфоцитів (CD22+) як відносної ( $p<0,05$ ), так абсолютної ( $p<0,01$ ) у пацієнтів I групи, ймовірно, пов'язано з активною проліферацією у відповідь на антигенний стимул чужорідного штаму *Candida*. У пацієнтів II групи такого підвищення не виявлено, тобто відсутність активації В-лімфоцитів може зумовлювати розвиток інфекційного процесу і розповсюдження грибів роду *Candida* у СО.

Розлади в гуморальній ланці імунітету виявлені у всіх пацієнтів (табл. 2).

На фоні підвищення кількості CD22+-клітин у пацієнтів I групи, рівень IgM достовірно знижувався в пацієнтів обох груп: у I групі – в 1,3 раза ( $p<0,001$ ) та в II групі – в 1,2 ( $p<0,01$ ). Це може свідчити про зниження функціональних можливостей В-лімфоцитів, які саме експресують на своїй поверхні IgM як антигенпрезентуючий рецептор, і зниження ефективності імунного захисту по відношенню до антигенів грибів роду *Candida*. За наявності кандидної інфекції на СО слід було б очікувати підвищення рівня IgA, проте в пацієнтів обох груп його рівень залишався в межах норми. Відомо, що для переключення синтезу В-лімфоцитами IgA необхідна участь Т-хелперів 2-го типу та цитокінів, які ними продукуються. Зниження кількості Т-хелперів (CD4+) у

периферичній крові в обстежених нами пацієнтів може бути непрямом ознакою зниження функціональної здатності інтраепітеліальних Т-хелперів, і тим фактором, який зумовлює низький гуморальний імунітет проти грибів роду *Candida*.

Рівень IgG у сироватці крові в пацієнтів був зниженим у I групі на 16,3 % ( $p<0,01$ ), у групі II – на 21,5 % ( $p<0,001$ ), що свідчить про зниження забезпечення тривалості гуморального імунітету.

Щодо рівня IgE, то як свідчать дані табл. 2, тенденція до підвищення його відбувалась у пацієнтів обох груп, що відображає активність Th-2 клітин, які пригнічують протигрибковий клітинний імунітет та є фактором розвитку інфекції. Це положення підтверджується високим рівнем IgE в осіб з інвазією у СО ШКТ. Зростання IgE свідчить також на користь розвитку процесів сенсibiliзації організму, які є фоном для розвитку кандидозу [5].

## Висновки

1. Кандидоз слизової оболонки верхнього відділу шлунково-кишкового тракту проходить на тлі істотних імунних порушень, що характеризуються Т-лімфопенією, зниженням імунорегуляторного індексу при зменшенні кількості Т-хелперів (CD4+), з яким асоціюється розвиток інвазивної форми кандидозу ( $r=-0,43$ ;  $p=0,03$ ).

2. Встановлена тенденція до зниження CD16+-клітин вказує на недостатню активацію імунної відповіді, а важливість CD16+ у розвитку кандидозу шлунково-кишкового тракту підтверджується кореляційним зв'язком між їх кількістю та кількістю локусів виявлення кандидозу, тобто поширенням у травному каналі ( $r=-0,44$ ;  $p=0,02$ ).

3. У пацієнтів з інвазією у слизовій оболонці грибів роду *Candida* не відбувається активації В-лімфоцитів, що може зумовлювати недостатність гуморального імунітету та розповсюдження грибів роду *Candida* у слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту. Порушення гуморальної імунної відповіді виявлене у всіх обстежених осіб за рахунок зниження Ig M та Ig G, відсутності активації Ig A та тенденції до збільшення Ig E.

## Перспективи подальших досліджень.

Утворення ареактивних клонів лімфоцитів і формування імунологічної толерантності до антигенів *Candida* в обстежених нами пацієнтів, можливо, зумовлено відсутністю коstimулюючих моле-

кул на поверхні Т-лімфоцитів чи цитокінів (ФНП-α, ІЛ-1, ІЛ-12). Вивчення їх є перспективним щодо подальшого визначення механізмів

розвитку інфекційного процесу при ураженні слизової оболонки шлунково-кишкового тракту грибами роду *Candida*.

*Автор вдячна співробітникам лабораторії імунології ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» керівнику, к.б.н. Кудрявцевій В.Є. і к.б.н. Татарчук О.М. за плідну співпрацю та участь у проведеної роботі.*

#### Література

1. Бабич П.Н. Применение статистических методов в практике клинических исследований / П.Н.Бабич, А.В.Чубенко, С.Н.Лапач // Укр. мед. часопис. – 2004. – № 2 (40). – С. 138-143.
2. Васильцов М.К. Труды (Московский мед. ин-т, 1-й): научная конференция аспирантов и ординаторов / М.К.Васильцов, Е.М.Шимкевич. – М.: Мир, 1964. – С. 18-20.
3. Лебедева Т. Н. Имунитет при кандидозе (обзор) / Т.Н.Лебедева // Пробл. мед. микологии. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 8-16.
4. Микробиология и иммунология для стоматологов / Ламонт Р.Д., Берне Р.А., Лантц М.С., Лебланк Д.Д. – М.: Практическая медицина, 2010. – 502 с.
5. Сергеев А.Ю. Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение / А.Ю.Сергеев, Ю.В.Сергеев. – М.: Триада-Х, 2001. – 472 с.
6. Хмельницкий О.К. Кандидоз (патологическая анатомия, химиотерапия, лечебный патоморфоз) / О.К.Хмельницкий, Р.А.Аравийский, О.Н.Экземпляров. – Ленинград : Медицина, 1984. – 198 с.
7. Park V.H. Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils / V.H.Park, S.M.Fikrig, E.M.Smithwich // Lancet. – 1968. – Vol. 2. – P. 532-534.

### ОСОБЕННОСТИ ИМУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С КАНДИДОЗОМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЕРХНЕГО ОТДЕЛА ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПРИ РАЗНОЙ ГЛУБИНЕ ЕЁ ПОРАЖЕНИЯ

*И.В.Кушніренко*

**Резюме.** При обследовании пациентов с кандидозом слизистой оболочки верхнего отдела желудочно-кишечного тракта выявлены основные звенья иммунитета, снижение активности которых (Т-хелперов, NK-клеток, Ig M и Ig G) обуславливает возникновение и распространение кандидозного поражения. Инвазия грибов рода *Candida* в слизистую оболочку сопровождается отсутствием активации В-лимфоцитов, Ig A и повышением Ig E.

**Ключевые слова:** кандидоз, иммунитет, слизистая оболочка, желудочно-кишечный тракт.

### PECULIARITIES OF IMMUNE REACTIVITY IN PATIENTS WITH CANDIDOSIS OF THE MUCOSA OF THE UPPER PART OF THE DIGESTIVE TRACT IN CASE OF VARIOUS DEPTH OF ITS LESION

*I.V.Kushnirenko*

**Abstract.** During an examination of patients with candidosis of the mucosa of the upper part of the digestive tract the author revealed the main components of immunity whose decrease (T-helpers, NK-cells, IgM and IgG) causes the onset and spread of the candidosis lesion. The invasion of the *Candida* type fungi to the mucosa is associated with a lack of the activation of B-lymphocytes, IgA and an increase of IgE.

**Key words:** candidosis, immunity, mucosa, digestive tract.

SI "Institute of Gastroenterology of Ukraine's NAMS" (Dnipropetrovsk)

Рецензент – проф. О.І.Волошин

Buk. Med. Herald. – 2011. – Vol. 15, № 2 (58). – P. 222-225

Надійшла до редакції 4.02.2011 року