

Материал поступил в редакцию: 07-11-2014

Материал принят к печати: 04-01-2015

УДК 616.594.171-002.191.612.017

Immune status of patients with Intestinal Candidiasis and Nonspecific ulcerative colitis

OMAROV TR.¹, OMAROVA LA.²

1 JSC "National Research Center of Oncology and Transplantation", Astana, Kazakhstan

2 JSC "Astana Medical University", Astana, Kazakhstan

The aim. To study the influence of intestinal Candidiasis on immune status and severity of clinical implications in patients with nonspecific ulcerative colitis.

Methods. The patients with nonspecific ulcerative colitis (NUC) infected by Intestinal Candidiasis, were divided into 2 groups depending on the severity. The first group – 15 patients with moderate NUC severity, the second - 15 patients with mild severity. The state of the immune status, depending on the severity of nonspecific ulcerative colitis was studied. Cell-bound immunity was assessed by uniform method, the main classes of immunoglobulins (G, A, M) by radial immunodiffusion according to Mancini. The identification of gram-positive cocci and Gram-negative rods pure cultures was performed by microbiological computer analyzer "Microtax" of firm "Sy-Lab" (Austria).

Results. A significant decrease in the number of T_H lymphocytes, the increase of immunoregulatory index T_H/T_S by reducing the amount of T_C and functional activity of T_H, reduction of killer suppressor T- lymphocytes in the peripheral blood, increase in CIC, decrease in B19+ and increase in IgG and decrease in IgA and IgM were identified in patients with moderate NUC severity infected by Candidiasis. In 89 % of patients with NUC colonic bacteria associated not only with a significant reduction of obligate bifidobacteria, but also with active growth of opportunistic bacteria. More marked impairment of microbial spectrum was observed in first group.

Conclusions. In patients with moderate NUC severity on the background of a violation of the microbial spectrum of the large intestine showed significant changes in cell-bound and humoral immunity and led to worse clinical severity.

Key words: nonspecific ulcerative colitis, intestinal microflora, Candidiasis, cell-bound immunity.

J Clin Med Kaz 2014; 4(34): 54 -57

Автор для корреспонденции: Омаров Тимур Рашидович, АО «Национальный научный центр онкологии и трансплантологии», сот. +77021996330, omarova.v@amu.kz

БЕЙСПЕЦИФИКАЛЫ ОЙЫҚЖАРАЛЫ КОЛИТ ЖӘНЕ КАНДИДОЗДЫҢ ИММУНДЫҚ СТАТУСҚА ӘСЕРІ

Омаров Т.Р.¹, Омарова Л.А.²

¹Ұлттық ғылыми онкология және трансплантология орталық, Астана, Қазақстан

²Астана медициналық университеті, Астана, Қазақстан

Зерттеу мақсаты. Ішек кандидозының иммундық жүйе көрсеткіштеріне әсерін және бейспецификалы ойықжаралы колит кезіндегі клиникалық әйгіленудің ауырлығын зерттеу.

Әдістері. Кандидоз жұқпасы бар бейспецификалы ойықжаралы колитпен (ОБК) ауыратын науқастар аурудың ауырлық дәрежесіне қарай 2 топқа бөлінді. Бірінші топта орташа ауырлық дәрежесіндегі ОБК-ға 15 науқас, екіншісінде ауырлық дәрежесі - 15 науқас. ОБК-ның ауырлық дәрежесіне байланысты иммундық статусың жағдайын зерттедік. Жасушалық иммунитетті жүйеленген әдіс бойынша, иммуноглобулиндердің негізгі класын (G, A, M) Манчини тәсілі бойынша радиалдық иммунодиффузия әдісімен бағаладық. Грам оң кокк және грам теріс таяқшалардан алынған таза өсімділер "Sy-Lab" (Austria) фирмасы шығарған "Микротакс" микробиологиялық компьютерлік анализаторда идентификацияланды.

Нәтижесі. Кандидоз жұқпасы бар ауырлық дәрежесі орташа ОБК-ға шалдыққан науқастарда Т₀ лимфоциттер саны айтарлықтай төмендеді, Т_S саны төмендеуінің және Т_H қызмет белсенділігінің арқасында Т_H/Т_S иммунды реттегіш индексі артты және перифериялық қандағы Т-лимфоциттерінің киллерлік-супрессорлық субполяциясы төмендеді, ИКА артты, В19+ төмендеді, IgG артты және IgA мен IgM төмендеді. ОБК-мен ауыратын науқастардың 89%-ында облигаттық бифидобактериялардың төмендеуіне ғана емес, сонымен қатар шартты патогендік формалардың белсенді артуына байланысты токішек дисбактериозы анықталды. Микроб спектрінің анық бұзылысы бірінші топта байқалды.

Қорытынды. Ауырлық дәрежесі орташа ОБК-ға шалдыққан науқастарда токішектің микроб спектрінің бұзылысы аясында облигатты микробиота төмендеді және шартты патогенді микробиота артты, жасушалық және гуморалдық иммунитет көрсеткіштерінде айқын өзгерістер және клиникалық әйгіленудің ауырлығы байқалды.

Маңызды сөздер: бейспецификалы ойықжаралы колит, ішек микрофлорасы, кандидоз, иммундық статус.

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ ЯЗВЕННЫЙ КОЛИТ И ВЛИЯНИЕ КАНДИДОЗА НА ИММУННЫЙ СТАТУС

Омаров Т.Р.¹, Омарова Л.А.²

¹АО «Национальный научный центр онкологии и трансплантологии», г. Астана, Казахстан

²АО «Медицинский университет Астана», г. Астана, Казахстан

Цель исследования. Изучить влияния кандидоза кишечника на показатели иммунного статуса и тяжесть клинических проявлений при неспецифическом язвенном колите.

Методы. Больные неспецифическим язвенным колитом, инфицированных кандидозом были поделены на 2 группы. Критерием для включения больных в группы служили клинические проявления и данные колоноскопии. Первая группа- 15 больных со средней степенью тяжести заболевания, вторая- 15 пациентов с легкой степенью, рандомизированные по полу, возрасту. Изучали состояние иммунного статуса в зависимости от степени тяжести язвенного колита. Клеточный иммунитет оценивали унифицированным методом, иммуноглобулины основных классов (G, A, M) методом радиальной иммунодиффузии по Манчини. Идентификация, выделенных чистых культур грамположительных кокков и грамотрицательных палочек, проводилась на микробиологическом компьютерном анализаторе «Микротакс» фирмы «Sy-Lab» (Austria). Исследования проводились в Национальном научном медицинском центре на платной основе.

Результаты. У больных язвенным колитом со средней степенью тяжести, инфицированных кандидозом, выявлено достоверное снижение количества Т_h лимфоцитов, увеличение иммунорегуляторного индекса Т_h/Т_c за счет снижения количества Т_c и функциональной активности Т_h и снижения киллерно- супрессорной субпопуляции Т- лимфоцитов в периферической крови, повышение ЦИК и снижение В19+ и повышение IgG и снижению IgA и IgM. У 89 % больных неспецифическим язвенным колитом выявлен толстокишечный дисбактериоз, связанный не только со значительным снижением облигатных бифидобактерий, но и с активным ростом условно- патогенных форм. Более выраженное нарушение микробного спектра наблюдалось в 1 группе.

Выводы. У больных язвенным колитом средней степенью тяжести на фоне нарушения микробного спектра толстого кишечника, снижении облигатной микрофлоры и повышении условно-патогенной, наблюдаются достоверные изменения в показателях клеточного и гуморального иммунитета и более выраженная тяжесть клинических проявлений.

Ключевые слова: неспецифический язвенный колит, микрофлора кишечника, кандидоз, иммунный статус.

ВВЕДЕНИЕ

Поражение слизистой оболочки кишечника кандидозом представляет собой одно из самых серьезных поражений нашей иммунной системы, так как 70% клеток иммунной системы находится в кишечнике [1-3]. Кандидоз, как правило, развивается у ослабленных больных со сниженной иммунной системой [4]. Защита организма в основном обеспечивается клеточным иммунитетом. Клеточный иммунитет ограничивает распространение инфекции, активизирует факторы резистентности и подавляет инфекцию. Эффекторами замедленной гиперчувствительности являются CD8+ и Т-клетки CD4+ 1 типа [5]. Иммуноглобулин М и секреторный IgA уменьшают способность грибов к адгезии. Данные о влиянии грибковой инфекции на возникновение

язвенного колита имеются, хотя убедительных подтверждений нет. Вместе с тем, роль патогенов в развитии язвенного колита не отрицают [6]. Следует отметить, что течение НЯК и состояние иммунной системы при присоединении грибковой инфекции остаются малоизученными. Оценка иммунологических особенностей у больных НЯК с кандидозом и определение их влияния на течение заболевания необходимы для разработки перспективных стратегий лечения.

Цель исследования. Изучить влияния кандидоза кишечника на показатели иммунного статуса и тяжесть клинических проявлений при неспецифическом язвенном колите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 30 больных неспецифическим язвенным колитом (НЯК) в стадии обострения. Для решения поставленной цели больные были поделены на две группы по 15 человек, рандомизированные по полу, возрасту, тяжестью клинического течения. Средний возраст составил 36,2±4,2 года. Критерием для включения больных в группы служили клинические проявления и данные колоноскопии. В зависимости от степени тяжести больные были поделены на 2 группы. Первая группа- 15 больных со средней степенью тяжести язвенного колита, вторая- 15 пациентов с легкой степенью. Состояние гуморального иммунитета оценивали унифицированным методом [7], иммуноглобулины основных классов (G, A, M) методом радиальной иммунодиффузии по Манчини [8].

Для выделения патогенных и условно- патогенных энтеробактерий посев кала производили на среде Эндо, Плоскирева, висмут- сульфит агар (ВСА). Среду Сабуро с добавлением антибиотика использовали для обнаружения грибов рода кандиды. На желточно- солевом агаре выявляли стафилококки. Для обнаружения ползущего роста протей производили

посев фекалий в конденсат скошенного мяса -пептонного агара по методу Шукевича. Кровяной агар использовали для определения гемолитической активности микроорганизмов. Количественное определение лактобактерий и энтерококков определяли на среде Рогоза, а для культивирования бифидобактерий использовали регенерированную среду Блаурокка. Идентификация, выделенных чистых культур грамположительных кокков и грамотрицательных палочек, проводилась на микробиологическом компьютерном анализаторе «Микротакс» фирмы «Sy-Lab» (Austria) [9].

Определяли средние величины, квадратичное отклонение средней δ , ошибки средней частоты и ее ошибку, коэффициент t по Стьюденту, уровень вероятности достоверности интервала p . Степень достоверности результатов оценивали по вероятности различий (p) на основании числа наблюдений сравниваемых рядов (n_1, n_2) по критерию Стьюдента, где $t = M_1 - M_2 / \sqrt{m_1^2 - M_1^2 + m_2^2 - M_2^2}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У 89 % больных неспецифическим язвенным колитом выявлен толстокишечный дисбактериоз, связанный не только со значительным снижением облигатных бифидобактерий, но и с активным ростом условно- патогенных форм в обеих группах. При микробиологическом исследовании кала выявлено снижение общего количества кишечной палочки у 21,3% больных, бифидобактерий у 94%, лактобактерий у 75,8%, повышение уровня условно- патогенной микрофлоры у 28,2% пациентов, гемолитических кишечных палочек и стафилококков у 48% и у 5,7% выявлен протей. В первой группе больных НЯК грибы рода кандиды выявлены у 60% больных в концентрации КОЕ $\geq 10^5$, тогда как во второй группе у 30% в концентрации КОЕ $\geq 10^4$. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что нарушения микробного спектра толстого кишечника более выражены в группе больных НЯК со средней степенью тяжести.

Исследование иммунологического статуса показало, что в 1 группе больных НЯК со средней степенью тяжести достоверное снижение количества Т₀ лимфоцитов, достоверное увеличение иммунорегуляторного индекса Т_х/Т_с за счет снижения количества Т_с и функциональной активности Т_х и снижения киллерно - супрессорной субпопуляции Т- лимфоцитов в периферической крови. Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) повышаются достоверно в первой группе больных и менее значительно во второй, свидетельствуя о более выраженном воспалении в слизистой толстого кишечника первой группы. Наблюдается снижение В19+ и это сопровождается повышением IgG и снижением IgA и IgM в первой группе больных, тогда как во второй группе, у которых НЯК протекал легко, сдвиги в иммунном статусе были менее выражены. Суммарные данные иммунологического обследования приведены в таблице.

Таблица – Показатели иммунного статуса больных неспецифическим язвенным колитом в зависимости от степени тяжести

Исследуемые показатели	Здоровые n=20	Больные НЯК			
		1 группа n=15		2 группа n=15	
		М ±m	Р 1	М ±m	Р 2
Т ₀ -лимф.10 ⁹ /л	49,2±1,7	45,7±1,3	≥0,05	48,6±1,4	≥0,05
В ⁺ -лимф%	12,6±0,5	9,4±0,3	≤0,05	13,6±0,4	≥0,05
Т _х ⁺ %	35,1±0,9	39,4±1,6	≤0,05	35,1±0,86	≥0,05
Т _с %	14,4±1,7	9,1±0,7	≤0,001	12,6±0,42	≥0,05
Т _х / Т _с	2,4±0,11	4,76±0,45	≤0,001	3,0±0,1	≤0,05
ЦИК у.е.	13,3±0,44	30,0±2,7	≤0,001	22,1±1,26	≤0,05
IgG г/л	10,9± 0,6	13,0±0,7	≤0,05	11,74±0,28	≥0,05
IgA г/л	1,4±0,1	1,14±0,04	≤0,01	1,27±0,05	≥0,05
IgM г/л	0,89±0,03	0,69±0,02	≤0,001	0,79±0,01	≤0,01

Примечание: сравнение с группой здоровых

Следует отметить, что в группе больных НЯК средней степени тяжести заболевание протекало с выраженными клиническими проявлениями: длитель-

но держался болевой синдром, диарея, сохранялась примесь крови и слизи в кале, заболевание имело резистентное течение к традиционной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

У 89 % больных неспецифическим язвенным колитом выявлен толстокишечный дисбактериоз, связанный не только со значительным снижением облигатных бифидобактерий, но и с активным ростом условно- патогенных форм, более выраженный в группе больных со средней степенью тяжести НЯК. Достоверное снижение количества Т₀ лимфоцитов, увеличение иммунорегуляторного индекса Т_х/Т_с, за счет снижения количества Т_с и функциональной активности Т_х и снижения киллерно- супрессорной субпопуляции Т- лимфоцитов в

периферической крови, повышение ЦИК и снижение В19+ и IgA, IgM, и повышение IgG также более выражено в первой группе пациентов.

Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов о нарушении клеточного иммунитета, снижении количества Т_с при кандидозе, и роли микрофлоры толстого кишечника в поддержании иммунного гомеостаза [10,11]. Снижение Т-клеток супрессоров приводит к уменьшению продукции защитного интерферона, ослаблению фагоцитоза, активности Т-цитотоксических лимфоцитов

и как следствие подавлению местного иммунитета и усугублению тяжести течения НЯК [12,13]. Сдвиги в микробном спектре толстого кишечника, выявленные у больных НЯК, приводят к нарушению барьерной функции слизистой оболочки кишечника и ее способности к восстановлению, следовательно, и нормальной работы иммунной системы кишечника. Повышение уровня кандидоза в толстом кишечнике подавляет звенья как клеточного, так и гуморального иммунитета при НЯК. Нарушение гуморального иммунитета сопровождается сдвигами в продукции IgA и IgM и повышении адгезии кандиды к слизистой толстого кишечника [13]. Присое-

динение кандидозной инфекции истощает субстанцию Т лимфоцитов и повышает чувствительность организма к системной кандидоинфекции. Следовательно, больным НЯК необходимо восстановление кишечной микрофлоры с целью активизирования защитных местных и общих иммунных реакций, создания иммунологической толерантности макроорганизма [5]. Полученные данные указывают на особое значение субстанций Т клеточного иммунитета и нормального состава индигенной микрофлоры кишечника в иммунной защите от кандидоза у больных НЯК [4].

ВЫВОДЫ

У больных НЯК средней степенью тяжести на фоне нарушения микробного спектра толстого кишечника, снижении облигатной микрофлоры и повышении условно-патогенной, наблюдаются достоверные изменения показателей клеточного и

гуморального иммунитета и более выраженная тяжесть клинических проявлений, что является показанием для исследования иммунного статуса и микробного спектра для коррекции лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shevjakov M.A. Diagnostika i lechenie kandidoza pishhevoda (Diagnosis and treatment of esophageal candidiasis), *Farmateka* 2000; 7 (102): 60–3.
2. Shevjakov M.A. Diagnostika i lechenie kandidoza zheludka (Diagnosis and treatment of esophageal candidiasis), *Probl. med. mikologii*, 2002, No.4(2), pp.50.
3. Lesovoj V.S., Lipnickij A.V., Ochкурова O.M. Mikozy pishhevaritel'nogo trakta (Obzor) (Mycosis of the digestive tract (Overview)), *Probl.med. mikologii*, 2004, No.6(2), pp.19–21.
4. Nikitin V. Ju., Suhina I. A., Cygan V. N. i dr. Markery aktivacii na T-helperah i citotoksicheskikh limfocitah na razlichnyh stadijah hronicheskogo virusnogo gepatita S. (Activation markers on the T helper and cytotoxic lymphocytes at various stages of chronic hepatitis C.). *Vestn. Ros. Voen. med. akad*, 2007, No.17(1), pp.65-1.
5. Lebedeva T.N. Immunitet pri kandidoze (Obzor) (Immunity for candidiasis (Overview)). *Probl. med. mikologii*, 2004, No.6(4), pp.8–16.
6. Burova S.A. Sovremennye predstavlenija o gribkovej patologii pishhevaritel'nogo trakta (Modern conceptions of fungal diseases of the digestive tract), *Lechashhij vrach*, 2005, No.6, pp.52–66.
7. Haitov R.M., Pinegin B.V., Istamov H.I. *Jekologicheskaja immunologija* (Ecological immunology), M., 1995, 219 p.
8. Manchini G., Vaerman J.P., Carbonera A.O. A single radial-diffusion method for the immunological quantitation of protein. *Procides of the biological fluids*. Ed.N. Peeters. Amsterdam; L.; N.Y, 1964, 370 p.
9. *Bakteriologicheskaja diagnostika disbakterioza kischechnika* (Bacteriological diagnosis of intestinal dysbiosis) : Metodicheskoe ukazanie 10.05.044.03, Almata, 2003, 22 p.
10. Lopez P., Gonzalez-Rodriguez I., Gueimonde M., Margolles A., Suarez A. Immune response to *Bifidobacterium bifidum* strains support Treg/Th17 plasticity. *PLoS One*, 2011, No.6 (9): e 24776. doi:10.1371/journal.pone.0024776
11. Dong H., Rowland I., Yaqoob P. Comparative effects of six probiotic strains on immune function in vitro, *Br.J.Nutr*, 2012, No.108 (3), 459–447.
12. Haitov, R. M. *Allergologija i immunologija: nacional'noe rukovodstvo*, pod red. R. M. Haitova, N. I. Il'inoj, M.: GJeOTAR-Media, 2009, 656 p.
13. Haitov, R. M. *Rukovodstvo po klinicheskoy immunologii. Diagnostika zabolevanij immunnoj sistemy: rukovodstvo dlja vrachej* R. M. Haitov, B. V. Pinegin, A. A. Jarilin, M.: GJeOTAR-Media, 2009, 352 p.