

# КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО КАНДИДОЗА ПИЩЕВОДА У ВИЧ/СПИД-НЕГАТИВНЫХ БОЛЬНЫХ В Г. САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

**Мелёхина Ю.Э. (аспирант), Фролова Е.В. (зав. лаб.), Шевяков М.А. (проф. каф.), Учеваткина А.Е. (н.с.), Филиппова Л.В. (н.с.), Выборнова И.В. (н.с.), Шурпицкая О.А. (зав. лаб.), Авдеенко Ю.Л. (с.нс.), Клишко Н.Н. (зав. каф.)**

НИИ медицинской микологии им.П.Н.Кашкина ГОУ ДПО СПб МАПО, Санкт-Петербург, Россия  
©Коллектив авторов, 2008

*Рецидивирующий кандидоз пищевода (РКП) закономерно регистрируют у больных с ВИЧ-инфекцией. Наряду с этим, у больных без ВИЧ-инфекции эта проблема изучена недостаточно. В работе представлены клинико-иммунологические особенности рецидивирующего кандидоза пищевода у 25 пациентов без ВИЧ-инфекции. Особенностью клинической картины кандидоза пищевода у таких больных было рецидивирующее течение с длительностью заболевания 3-7 лет и частотой рецидивов не менее 1 раз в год. При микологическом обследовании выявляли штаммы *Candida albicans*, чувствительные in vitro к флуконазолу, вориконазолу. У больных РКП имели место изменения клеточного иммунного ответа.*

**Ключевые слова:** врожденный и приобретенный иммунный ответ, кандидоз пищевода, *Candida* spp.

## CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PECULIARITIES RECURRENT ESOPHAGEAL CANDIDOSIS (REC) IN HIV — NEGATIVE PATIENTS IN ST. PETERSBURG

**Melekhina Iu.E. (post graduate student), Frolova E.V. (head of laboratory), Shevyakov M.A. (professor of chair), Uchevatkina A.E. (scientific collaborator), Filippova L.V. (scientific collaborator), Vybornova I.V. (scientific collaborator), Shurpitskaya O.A. (head of laboratory), Avdeenko Yu.L. (senior scientific collaborator), Klimko N.N. (manager of chair)**

Kashkin Research Institute of Medical Mycology, SEI APE SPb MAPE, Saint Petersburg, Russia  
©Collective of authors, 2008

*Esophageal candidosis is the most frequent opportunistic fungal infection among human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients. The problem of a recurrent esophageal candidosis (REC) in HIV-negative patients is not studied enough. Clinical and immunological peculiarities diagnosis and treatment of recurrent esophageal candidosis at 25 patients are presented. The recurrent duration and resistance to antifungal therapy are revealed. It was determined, that relapse is not connected to the agent. The recurrent of esophageal candidosis is caused by *C. albicans* sensitive to fluconazole, voriconazole in 100% of patients.*

**Key words:** *Candida* spp., esophageal candidosis, innate and adaptive immune responses

## ВВЕДЕНИЕ

Частота грибковых заболеваний значительно возросла в последние два десятилетия, главным образом, из-за увеличивающегося количества иммунокомпрометированных пациентов, в том числе ВИЧ-инфицированных, реципиентов трансплантатов органов и тканей, а также пациентов со злокачественными новообразованиями [1].

Рецидивирующий кандидоз пищевода часто возникает у больных с ВИЧ-инфекцией. У больных без ВИЧ-инфекции причины рецидивирования кандидоза пищевода, а также его этиология и клинико-иммунологические особенности изучены недостаточно. При РКП отмечают резистентность к проводимой антимикотической терапии, снижение качества жизни у пациентов и наличие таких осложнений, как стриктура и пищеводное кровотечение.

Известно, что *Candida* spp. часто колонизируют желудочно-кишечный и половой тракты здорового человека. Однако роль врожденных и приобретенных факторов иммунной системы, регулирующих устойчивость к *Candida* spp. и предотвращающих переход колонизации слизистой оболочки в симптоматическую инфекцию, до настоящего времени остается не ясной [2].

Цель исследования — изучить этиологию, факторы риска и клинико-иммунологические особенности РКП.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В 2004-2007 гг. в микологической клинике НИИ медицинской микологии СПб МАПО нами было обследовано 86 человек, в том числе 25 больных с РКП (средний возраст — 53±3 лет) с длительностью заболевания 3–7 лет и частотой рецидивов не менее 1 раз в год. Контрольная группа состояла из 20 здоровых человек того же возраста. Группу сравнения составили 18 пациентов с впервые выявленным кандидозом пищевода (КП) и 23 человека — с рефлюкс-эзофагитом (РЭ) (средний возраст — 53±3 лет).

Всем пациентам выполняли фиброэзофагоскопию с биопсией слизистой оболочки пищевода, микроскопическое исследование мазков слизистой оболочки, микологическое исследование биоптатов слизистой оболочки пищевода с определением вида

возбудителей. Идентификацию возбудителей проводили при помощи биохимических тестов с использованием тест-систем «Ауксоколор 2» (BIO — RAD). Чувствительность возбудителей к антимикотикам определяли диско-диффузионным методом CLSI M44-A (NCCLS). Также были проведены общеклинические, биохимические и инструментальные (УЗИ, ЭКГ, рентгенографические и пр.) исследования.

Диагноз кандидоза пищевода верифицировали при наличии у больного характерных изменений при эндоскопии в сочетании с выявлением мицелия, псевдомицелия, почкующихся клеток *Candida* spp. в окрашенных мазках, признаков инвазивного роста грибов в биопсийном материале или выделении возбудителя при посеве биопсийного материала. После проведённого лечения определяли его клиническую и микологическую эффективность. Клинический эффект наблюдали при исчезновении жалоб и визуальных эндоскопических признаков КП. Микологическую излеченность констатировали при отсутствии элементов гриба в контрольных мазках-отпечатках и отсутствии роста гриба при контрольных посевах биоптатов пищевода.

Состояние иммунореактивности оценивали по показателям клеточного и гуморального иммунного ответа, а также факторов неспецифической резистентности организма. Субпопуляционный состав лимфоцитов определяли иммуноцитохимическим методом с использованием моноклональных антител (фирма DAKO). При этом исследовали содержание общего числа Т-лимфоцитов (CD3), Т-хелперов (CD4), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8), В-лимфоцитов (CD22), естественных киллеров (CD16) и количество лимфоцитов с активационными маркерами (CD25). Уровни иммуноглобулинов IgG, IgA, IgM оценивали по Манчини. Кислородзависимую микробицидность нейтрофилов характеризовали при помощи НСТ-теста, а также изучали их фагоцитарную и киллерную активность в отношении *C. albicans*. Определение спонтанной и индуцированной продукции ИФН- $\gamma$  в цельной крови проводили методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем (фирма «Цитокин»). Полученные результаты статистически обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA for Windows (версия 6.0) с использованием критерия достоверности Стьюдента (t), расчетом средней арифметической величины (M) и ошибки средней (m).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Типичные факторы риска и фоновые заболевания развития кандидоза слизистых оболочек ЖКТ выявили у 80%:

- сахарный диабет – 38%
- терапия глюкокортикостероидами – 15%
- применение антибиотиков широкого спектра действия – 15%
- применение цитостатиков – 7%
- приём горячей пищи – 5%

- сахарный диабет — 14%
- ахалазия пищевода — 12%
- оперативное лечение пищевода — 7%
- новообразования — 5%

У 20% больных факторы риска и фоновые заболевания не были установлены. Клиническая картина РКП характеризовалась дисфагией и ретростернальным дискомфортом. При фиброэзофагоскопии выявляли гиперемию и контактную ранимость слизистой оболочки пищевода у 100% больных, появление фибринозных очаговых наложений белого цвета – у 95%. У 100% больных возбудителем была *C. albicans*, чувствительная к флуконазолу и вориконазолу.

Курс лечения в первом эпизоде кандидоза пищевода составлял 150 мг флуконазола в сутки в течение 14 дней. У всех больных основной группы рецидив заболевания возник в течение 6 месяцев.

При иммунологическом обследовании не выявили достоверных отличий по сравнению с показателями группы контроля в субпопуляционном составе лимфоцитов у больных КП и РЭ (табл. 1). Существенные изменения иммунореактивности были установлены у пациентов с рецидивирующим течением болезни. У больных РКП было снижено абсолютное число Т-лимфоцитов за счет Т-хелперов по сравнению с данными не только контрольной группы, но и больных КП и РЭ. Падение числа Т-хелперов в крови может отражать истощение лимфоцитарного ростка по мере прогрессирования заболевания. Известно, что большую часть Т-хелперов составляют Т-хелперы 1 типа, функция которых направлена на поддержание пролиферации цитотоксических Т-лимфоцитов и усиление фунгицидной активности фагоцитов [2].

Как известно, цитокины, молекулы межклеточного взаимодействия обеспечивают взаимосвязь между клетками иммунной системы, и по их продукции можно судить о напряженности иммунного ответа [2]. Главным цитокином, вырабатываемым Т-хелперами 1 типа, является ИФН- $\gamma$ , который существенно усиливает противогрибковую активность нейтрофилов, и его продукция должна повышаться при развитии инфекционного процесса. Однако у больных РКП была снижена резервная способность лимфоцитов к продукции этого цитокина. Выявили достоверное повышение спонтанной продукции и снижение индуцированной выработки ИФН- $\gamma$  клетками крови. Это является показателем эндогенного раздражения иммунной системы и постепенного истощения функциональной активности Т-хелперов 1 типа.

Таким образом, изменения клеточного иммунного ответа были особенно выражены у больных РКП. Эти данные согласуются со сниженной киллерной активностью нейтрофилов у всех обследуемых больных по сравнению с контролем, а у пациентов с РКП было установлено снижение их способности к фагоцитозу. Следовательно, особенностью больных с РКП были более глубокие изменения в иммунной системе – не только снижение продукции ИФН- $\gamma$ , киллерной и фагоцитарной активности нейтрофилов на

Таблица 1.

**Показатели общей иммунореактивности у пациентов с рефлюкс-эзофагитом, кандидозом пищевода и рецидивирующим кандидозом пищевода**

Показатель	контроль (n=20)	РЭ (n=23)	КП (n=18)	РКП (n=25)
Лейкоциты абс., $\cdot 10^9/\text{л}$	6,02 $\pm$ 0,21	6,14 $\pm$ 3,24	5,68 $\pm$ 0,30	5,52 $\pm$ 0,24
Лимфоциты, %	37,80 $\pm$ 1,03	36,61 $\pm$ 2,16	41,06 $\pm$ 2,81	34,00 $\pm$ 2,32
Лимфоциты абс., $\cdot 10^9/\text{л}$	2,23 $\pm$ 0,09	2,15 $\pm$ 0,10	2,24 $\pm$ 0,15	1,83 $\pm$ 0,12 *
CD3, %	66,50 $\pm$ 1,07	68,57 $\pm$ 1,08	68,11 $\pm$ 0,66	66,60 $\pm$ 1,08
CD3 абс., $\cdot 10^9/\text{л}$	1,48 $\pm$ 0,07	1,47 $\pm$ 0,08	1,55 $\pm$ 0,12 ≠	1,23 $\pm$ 0,08 *#
CD4, %	40,20 $\pm$ 0,82	41,35 $\pm$ 1,17	40,39 $\pm$ 1,65	40,16 $\pm$ 1,10
CD4 абс., $\cdot 10^9/\text{л}$	0,88 $\pm$ 0,03	0,88 $\pm$ 0,05	0,93 $\pm$ 0,08 ≠	0,73 $\pm$ 0,05 *#
CD8, %	27,05 $\pm$ 0,48	27,78 $\pm$ 0,97	28,00 $\pm$ 1,82	27,88 $\pm$ 1,25
CD8 абс., $\cdot 10^9/\text{л}$	0,60 $\pm$ 0,03	0,60 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,05	0,52 $\pm$ 0,05
CD20, %	15,70 $\pm$ 0,60	14,48 $\pm$ 0,75	15,83 $\pm$ 0,90	14,92 $\pm$ 1,06
CD20 абс., $\cdot 10^9/\text{л}$	0,35 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,03 ≠	0,27 $\pm$ 0,02 *
CD25, %	13,60 $\pm$ 0,39	12,00 $\pm$ 0,63	12,56 $\pm$ 0,83	13,76 $\pm$ 1,01
CD25 абс., $\cdot 10^9/\text{л}$	0,30 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,02 *
CD16, %	10,70 $\pm$ 0,43	12,26 $\pm$ 0,64	8,89 $\pm$ 0,67	10,72 $\pm$ 0,46
CD16 абс., $\cdot 10^9/\text{л}$	0,24 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02 #	0,20 $\pm$ 0,02#
ИРИ	1,52 $\pm$ 0,04	1,57 $\pm$ 0,08	1,57 $\pm$ 0,13	1,51 $\pm$ 0,09
НСТ спонтанный, %	25,70 $\pm$ 1,58	31,09 $\pm$ 4,31	29,61 $\pm$ 3,46	34,60 $\pm$ 3,93
НСТ активированный, %	57,15 $\pm$ 2,44	60,77 $\pm$ 4,02	55,56 $\pm$ 4,29	60,56 $\pm$ 3,86
ФИ %	71,50 $\pm$ 1,79	67,53 $\pm$ 2,30	66,89 $\pm$ 3,31	60,75 $\pm$ 3,02 *
КК %	38,75 $\pm$ 1,30	22,21 $\pm$ 2,65*	21,89 $\pm$ 2,48 *	28,00 $\pm$ 1,75 *
ИНФ — $\gamma$ сп	30,35 $\pm$ 5,44	34,13 $\pm$ 4,96	56,53 $\pm$ 9,09 *	78,09 $\pm$ 7,98 * #
ИНФ — $\gamma$ инд	896,55 $\pm$ 84,23	525,4 $\pm$ 46,5 *	454,76 $\pm$ 55,90 *	361,36 $\pm$ 39,74 *
IgA, г/л	1,84 $\pm$ 0,02	1,80 $\pm$ 0,04	1,84 $\pm$ 0,03	1,84 $\pm$ 0,04
IgM, г/л	1,77 $\pm$ 0,62	1,08 $\pm$ 0,03	1,16 $\pm$ 0,02	1,19 $\pm$ 0,02
IgG, г/л	13,27 $\pm$ 0,67	14,09 $\pm$ 0,44	14,42 $\pm$ 0,27	14,30 $\pm$ 0,23
НФ%	50,30 $\pm$ 0,93	50,28 $\pm$ 2,50	46,24 $\pm$ 2,81	56,08 $\pm$ 2,34 *
НФ абс. $\cdot 10^9/\text{л}$	1,69 $\pm$ 0,16	2,72 $\pm$ 0,22	2,62 $\pm$ 0,24	3,12 $\pm$ 0,20

\* — достоверное отличие между соответствующими показателями контрольной группы и группами больных с РЭ, КП и РКП ( $p < 0,001-0,05$ )

# — достоверное отличие между соответствующими показателями группы больных с РКП и РЭ ( $p < 0,001-0,05$ )

≠ -достоверное отличие между соответствующими показателями группы больных с РКП и КП ( $p < 0,001-0,05$ )

фоне очередного рецидива инфекционного процесса, но и невозможность количественно компенсировать сниженную продукцию цитокина, определяющего напряженность клеточного иммунного ответа.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В работе представлены клинко-иммунологические данные РКП у ВИЧ-неинфицированных больных. По данным научной литературы, кандидоз пищевода остаётся часто выявляемой микотической инфекцией среди пациентов с ВИЧ [3]. Установлено, что рецидивирующий кандидоз пищевода

имеет место более чем в 75% случаев у пациентов с данной патологией [4]. Причины рецидивирования у больных без ВИЧ инфекции изучены недостаточно. Основными факторами риска развития РКП у ВИЧ-негативных больных являются: сахарный диабет, злокачественные новообразования, применение антибиотиков широкого спектра действия, стероидов, цитостатиков, нейтропения и хронический термический ожог пищевода [4]. Кандидоз пищевода может протекать бессимптомно и являться случайной находкой при эндоскопическом исследовании [5]. За последнее время отмечают увеличение количества больных РКП. Манифестные формы КП проявляются дисфагией и несколько реже — одинофагией, ретростернальным дискомфортом [5].

Механизмы защиты макроорганизма против микромицетов многочисленны. Известно, что любая слизистая оболочка — это часть внутриэпителиальной иммунной системы и, соответственно, место первичного контакта с различными антигенами и продуктами жизнедеятельности микроорганизмов (в том числе *Candida spp.*). В эпителиальном пласте, собственно слизистой оболочке, подслизистом слое находятся клеточные элементы, гуморальные факторы, которые способны распознавать, перерабатывать, элиминировать разнообразные антигены. При этом развиваются местный неспецифический и специфический иммунные ответы и воспаление, призванные ограждать макроорганизм от агрессии [6]. Тем не менее, являясь входными воротами для множества антигенов, слизистая оболочка пищевода осуществляет гуморальные и клеточные реакции, обеспечивающие функциональное единство всей иммунной системы организма.

Основным механизмом специфического клеточного иммунного ответа является Т-клеточный с преобладанием Т-хелперов 1-типа; важным показателем напряженности иммунного ответа является число клеток и их способность к продукции провоспалительных цитокинов [2]. ИФН- $\gamma$  — цитокин клеточного иммунного ответа, необходимый для усиления и поддержания противогрибковой активности нейтрофилов и макрофагов, от которых зависит успешная элиминация грибов из организма. Нами было установлено, что изменения иммунореактивности у больных с КП достоверно не отличались от состояния иммунной системы у больных группы сравнения, что свидетельствует о неспецифичности выявленных нарушений. У больных с длительным течением микотического процесса установлены существенные нарушения клеточной иммунореактивности — снижение количества Т-хелперов и их функциональной активности по продукции ИФН- $\gamma$  и нарушение поглотительной активности нейтрофилов. Возможно, снижение напряженности клеточного иммунного ответа способствует возникновению и прогрессированию инфекционного процесса, но, вероятно, и грибы оказывают иммуномодулирующее влияние на баланс иммунцитов.

## ВЫВОДЫ

1. У 100% больных РКП возбудителем кандидоза пищевода является *C. albicans*, чувствительная *in vitro* к флуконазолу и вориконазолу.

2. Имеют место частые рецидивы заболевания.

3. Особенностью иммунореактивности больных с РКП являлось достоверное снижение абсолютного числа Т-хелперов и фагоцитарной активности нейтрофилов.

4. Снижение числа Т-хелперов может быть важным прогностическим показателем для оценки возможного рецидива РКП.

5. Для предотвращения рецидивов заболевания важным условием является лечение фоновых заболеваний, устранение и уменьшение выраженности факторов риска.

6. При рецидивирующем кандидозе пищевода всем больным показана повторная фибро-эзофагоскопия через 6 месяцев с микологическим изучением биоптатов и мазков-отпечатков слизистой оболочки пищевода, и контроль определения чувствительности к антимикотикам.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Weerasuriya N., Snape J. Oesophageal candidiasis in elderly patients: risk factors, prevention and management // Drugs Agin.-2008.-Vol.2-P.119-30
2. Romani L. Immunity to fungal infections. Reviews//Immunology – 2004. — Vol.4- P.-11-24.
3. de Repentigny L., Lewandowski D., Jolicoeur P. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus infection // Clin. Microbiol. Rev.- 2004.-Vol.4.-P.-729-59.
4. Nola I., Kostović K., et.al. *Candida* infections today — how big is the problem? // Acta Dermatovenerol. Croat.-2003.-Vol.3.-P.-171-7.
5. Thom K., Forrest G. Gastrointestinal infections in immunocompromised hosts//Curr. Opin. Gastroenterol. -2006.-Vol.1.-P.-18-23.
6. Romani L. and Puccetti P. Controlling pathogenic inflammation to fungi// Expert Rev. Anti Infect. Ther. -2007.- Vol.5, №6. – P.- 1007-1017.

Поступила в редакцию журнала 09.09.08

Рецензент: Е.Е.Зуева

