

І. В. Кушніренко

ВИЗНАЧЕННЯ ПОРУШЕНЬ РІЗНИХ РІВНІВ БАР'ЄРНОЇ ФУНКЦІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ВЕРХНЬОГО ВІДДІЛУ ТРАВНОГО ТРАКТУ ЯК КЛЮЧОВОГО ФАКТОРА РОЗВИТКУ КАНДИДОЗУ У ХВОРИХ ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЧНОГО ПРОФІЛЮ

ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», Дніпро, Україна

УДК 616.3+616-022+616-092.19

І. В. Кушніренко

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАРУШЕНИЙ РАЗНЫХ УРОВНЕЙ БАРЬЕРНОЙ ФУНКЦИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЕРХНЕГО ОТДЕЛА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА КАК КЛЮЧЕВОГО ФАКТОРА РАЗВИТИЯ КАНДИДОЗА У ПАЦИЕНТОВ ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», Днепр, Украина

Цель исследования — определить уровни нарушения барьерной функции слизистой оболочки у пациентов с кандидозом верхнего отдела пищеварительного тракта путем изучения и сопоставления клинических, микробиологических, иммунологических и биохимических аспектов заболевания. Согласно результатам, нарушения барьерной функции слизистой оболочки при кандидозе происходят на разных уровнях вследствие снижения лактоферина и секреторного иммуноглобулина в жидких средах верхнего отдела пищеварительного тракта, структурной дезорганизации слизистого геля, дисбаланса в системе антиоксидантной защиты, накопления продуктов перекисного окисления липидов, снижения активности Т-лимфоцитарного звена, дисбаланса синтеза цитокинов и гуморальной составляющей иммунитета при высоком уровне эндотоксемии. Ключевым звеном, ассоциирующимся с тяжестью поражения слизистой оболочки, является свойство букальных эпителиоцитов адгезировать *Candida albicans*.

Ключевые слова: слизистая оболочка, кандидоз, барьерная функция.

UDC 616.3+616-022+616-092.19

I. V. Kushnirenko

DEFINITION OF DAMAGE OF DIFFERENT LEVELS OF BARRIER FUNCTION OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE UPPER AREA OF THE DIGESTIVE TRACT AS KEY FACTOR OF THE DEVELOPMENT CANDIDIASIS IN GASTROENTEROLOGIC PATIENTS

SI "Institute of Gastroenterology of NAMS of Ukraine", Dnipro, Ukraine

The Aim is to determine the levels of barrier dysfunction of the mucous membrane with candidiasis of the upper part of the digestive tract in order to study and compare clinical, microbiological, immunological and biochemical aspects of the disease.

Materials and methods. 136 patients were examined who were divided into three groups of microbiological investigation of the tongue's scrape and biopsy materials of esophagus and stomach depending on the depth of the mucous membrane damage. Pepsin's concentration, glycoproteins concentration, sialic acids, fucosa, hexosamine in the gastric juice concentrations, the level of lactoferrin and secretory immunoglobulin A in the oral liquid and gastric juice were defined. CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+, functional activity of granulocytes in the spontaneous NST-test, the level of immune complexes, interleukins (IL)-1 β , -4, -6, -8, TNF- α (tumor necrosis factor), such immunoglobulin as A, M, G, E, malondialdehyde, catalase, the activity of superoxidodismutase, diene conjugates were defined in peripheral blood. Peculiarities of buccal epithelial cells of patients were studied.

Results. Based on results, barrier dysfunction of the mucous membrane of the candidiasis are on different levels as a consequence of lactoferrin and secretory immunoglobulin decrease in liquids of the digestive tract, structural disorganization of the mucous gel, imbalance in the system of antioxidative protection, accumulation of products of lipid peroxidation, decrease of T-lymphocytic link activity, imbalance of cytokine's synthesis, and humoral part of immunity at high level of endotoxemia. Substance of buccal epithelial cells of *Candida albicans* is key link which is associated with the severity of the damage of the mucous membrane.

Conclusions. The development of candidiasis of the mucous membrane of the upper area of the digestive tract will be due to the decrease of the barrier function that is the result of the complex influence of all levels of its functioning.

Key words: mucous membrane, candidiasis, barrier function.



Робота є фрагментом НДР ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» на тему «Вивчити ендогенні та екзогенні фактори розвитку кандидозу при запальних та ерозивно-виразкових захворюваннях верхнього відділу шлунково-кишкового тракту і оптимізувати диференційовану терапію», № держреєстрації 0109U008882.

Вступ

Захисна функція слизової оболонки шлунково-кишкового тракту складається із кількох бар'єрів: механічного, хімічного, мікробного та імунного. Механічний бар'єр утворюється із шару слизу й епітеліальних клітин. До складу хімічного бар'єру належать шлунковий сік, жовч, травні ферменти, лізоцим та інші компоненти, що секретуються у травному тракті. Імунним бар'єром є мукозальна лімфоїдна тканина, тобто лімфоїдні скупчення, які розташовані у слизових оболонках (MALT — mucosa-associated lymphoid tissue), до складу яких входять антиген-презентуючі клітини, ефекторні В-клітини, плазматичні клітини тощо. Основними складовими мікробного бар'єру є *Bifidobacterium spp.* та *Lactobacillus spp.* [1; 2].

Гомеостаз епітеліального бар'єру підтримується складною взаємодією кількох регуляторних механізмів, порушення яких відіграє критичну роль для розвитку низки захворювань травного тракту [3; 4].

Окрім забезпечення фізичних властивостей слизової оболонки, епітелій також виконує спостережну функцію, реагуючи на мікробні антигени і здійснюючи регуляторну функцію на системи вродженого й адаптивного імунітету. Активовані на поверхні епітеліоцитів рецептори (CLRs, NLRs, TLRs) стимулюють синтез прозапальних цитокінів, які, у свою чергу, рекрутують імунні клітини до місця контакту з патогеном. Таким чином запускається каскад імунних реакцій для забезпе-

чення захисту слизової оболонки [5].

Але прозапальні цитокіни IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-8, IL-4, IL-6 не тільки відіграють центральну роль у запаленні й ушкодженні, а і зумовлюють втрату бар'єрної функції слизової оболонки при надмірному синтезі шляхом порушення цитоскелета клітин та дезінтеграції міжклітинних сполучень, наслідком чого є збільшення парацелюлярної проникності та втрата бар'єрної функції епітеліального шару [6–8].

З підвищенням проникності інтестинального бар'єру асоціюються такі захворювання кишечника, як синдром подразненого кишечника, колагенозний коліт, інтестинальна ішемія, НПЗП-асоційована ентеропатія, целиакія, харчова алергія тощо. Окрім того, із цим патогенетичним механізмом пов'язують захворювання неінтестинальної локалізації: алкогольну хворобу печінки, неалкогольну хворобу печінки, діабет 1 типу, гострий панкреатит, хронічні серцеві захворювання, емоційний стрес [9].

Іншим чинником, що впливає на функціональну повноцінність слизової оболонки є оксидативний стрес, зокрема продукти перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що також здатні порушувати цілісність бар'єрної функції, руйнуючи мікротрубочки цитоскелета. Відомо, що оксидативний стрес супроводжує гастроінтестинальні захворювання, серед яких гастроудоденальні виразки, запальні захворювання кишечника, онкологічні захворювання шлунка та кишечника, а зростання продуктів оксидативного стресу зумовлюють ультрафіолетове опромінювання, паління, зловживання алкоголем, прийом нестероїдних протизапальних препаратів тощо [10; 11].

Отже, розуміння взаємодії усіх можливих патогенетичних механізмів впливу на бар'єрну функцію слизової оболонки

шлунково-кишкового тракту забезпечить визначення механізму розвитку захворювань, зокрема механізму ураження слизової оболонки при надмірному рості на ній такого патогену, як *Candida albicans* [12].

Мета дослідження — визначити можливі механізми порушення бар'єрної функції слизової оболонки у хворих гастроентерологічного профілю з кандидозом верхнього відділу травного тракту шляхом вивчення та порівняння клінічних, мікробіологічних, імунологічних і біохімічних аспектів захворювання.

Матеріали та методи дослідження

До проведення дослідження долучено 136 пацієнтів. Критерії відбору: виявлення IV ступеня масивності обсіменіння (СМО) язика грибами *Candida albicans* за даними мікробіологічного обстеження зшкрібка з язика і/або наявність росту грибів у біоптатах слизової оболонки стравоходу (СХ) і/або шлунка. Із обстеження виключалися пацієнти, яким менше ніж за 4 тиж. до цього проводили антибактеріальну терапію, та ВІЛ-інфіковані хворі. На підставі результатів мікробіологічного обстеження виділено 65 пацієнтів з орофарингеальним кандидозом (ОФК) — IV СМО грибами *Candida* та поверхневим ростом грибів у матеріалі зі слизової оболонки СХ і шлунка, які увійшли до 1-ї групи. До 2-ї групи включено 47 пацієнтів, у яких при мікробіологічному дослідженні виявлено інвазивний ріст *Candida albicans* у слизовій оболонці СХ і/або шлунка. До 3-ї групи увійшли 24 пацієнти, у яких при мікробіологічному дослідженні росту грибів не виявлено. Середній вік пацієнтів у 1-й групі становив $(47,00 \pm 12,22)$ року, у 2-й групі — $(50,62 \pm 15,24)$ року, у 3-й групі — $(46,33 \pm 13,34)$ року без вірогідної різниці між цими показниками.



Морфологічний стан СХ і шлунка вивчали за даними цитологічного та гістологічного досліджень. Для мікробіологічного дослідження біоптати тричі промивали стерильним ізотонічним розчином хлориду натрію з метою звільнення їх від порожнинної та поверхневої мікрофлори, зважували, вносили в стерильну порцелянову ступку, додаючи 0,5 мл фізіологічного розчину, і гомогенізували до однорідної маси. Із гомогенату посів на щільне середовище Сабуро проводили за методом Голда (метод секторних посівів) із подальшою кількісною оцінкою росту. У шлунковому вмісті, який збирали під час езофагогастроуденоскопії, визначали концентрацію пепсину, глікопротеїнів, сіалових кислот, фукози, гексозамінів.

Субпопуляційний склад лімфоцитів у крові визначали за допомогою моноклональних антитіл фірми «Сорбент ТМ» до маркерів CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ за допомогою лімфоцитотоксичного тесту (стандартний метод NIH, США). Оцінювали функціональну активність гранулоцитів у спонтанному НСТ-тесті за реакцією відновлення нітросинього тетразолію, циркулюючі імунні комплекси вивчали за методом V. Naskova. Вміст імуноглобулінів А, М, G, E у сироватці крові визначали імуноферментним методом за допомогою тест-систем ТОВ НВЛ «Гранум» (Україна) за рекомендаціями виробника, вміст лактоферину та секреторного імуноглобуліну класу А в шлунковому соку та слині — імуноферментним методом за допомогою стандартних наборів ЗАТ «Вектор-Бест» (Росія). Методом кількісного імуноферментного аналізу встановлювали рівень інтерлейкінів (IL)-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, ФНП- α за допомогою діагностичних тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Росія) відповідно до інструкції виробника.

Прооксидантну ланку оцінювали за концентрацією малонового діальдегіду (МДА) у плазмі крові та за вмістом проміжних продуктів ПОЛ, які визначали за поглинанням екстрагованими ліпідами монохроматичного світлового потоку в ультрафіолетовій області спектра з розподілом реєстрації ліпідного екстракту крові в гептановій та ізопропанольній фракціях, та дієнових кон'югатів (ДК). Стан антиоксидантної ланки оцінювали за загальною антиоксидантною активністю (АОА), активністю супероксиддисмутази (СОД) та каталази в гемолізаті еритроцитів. Також у плазмі крові визначали активність циркулюючого церулоплазміну за модифікованим методом Ревіна.

Здатність до адгезії референтного штаму *Candida albicans* (ATCC 10231=CCM 885-653=IMI 973, родовід штаму ГІСК, 1985=CCM, 1980) вивчали на букальних епітеліоцитах (БЕ) 66 осіб із обстежених пацієнтів. Оцінку адгезії здійснювали за стандартною методикою, використовуючи такі показники:

1) середній показник адгезії мікроорганізмів референтного штаму на букальних епітеліоцитах (СПАБЕ) — середня кількість мікробів, що прикріпилися до одного епітеліоцита при підрахунку не менш як 25 епітеліоцитів;

2) коефіцієнт участі букальних епітеліоцитів у адгезивному процесі (КБЕ) — відсоток епітеліоцитів, що мають на своїй поверхні адгезовані мікроби;

3) індекс адгезивності мікроорганізму референтного штаму до букальних епітеліоцитів (ІАМБЕ) — середня кількість мікробних клітин на одному епітеліоциті, що бере участь в адгезивному процесі, що обчислювали за формулою:

$$\text{ІАМБЕ} = \text{СПАБЕ} \cdot 100 : \text{КБЕ}.$$

Здатність епітеліоцитів до адгезування *Candida albicans*

оцінювали як відсутню при ІАМБЕ < 1,74, низьку — від 1,76–2,5, середню — від 2,51–4,0 та високу — при ІАМБЕ вище 4,0. Функціональний стан шлунка оцінювали методом ультразвукової локації за допомогою сонографічної системи лінійного сканування в реальному масштабі часу "Sonoscope-30" фірми Krancbuhler.

Для статистичного аналізу даних використовували дескриптивну статистику; порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою параметричних методів (t-критерію Стьюдента, F-exact критерію) за нормального розподілу даних ознак. Відповідність виду розподілу ознак закону нормального розподілення перевіряли за допомогою методу Шапіто — Уїлка. В інших випадках використовували непараметричний метод (U-критерій Манна — Уїтні). Оцінку вірогідності відмінностей якісних ознак у групах проводили із використанням критерію χ^2 . Статистична значущість різниці оцінювалась на рівні, не нижчому 95,0 % (ризик помилки $p < 0,05$). Проводили кореляційний аналіз за Пірсоном і Спірменом (залежно від того, у яких шкалах виражені дані).

Результати дослідження та їх обговорення

За результатами проведеного дослідження визначено рівні та механізми порушення бар'єрної функції слизової оболонки у хворих із кандидозом слизової оболонки верхнього відділу травного тракту, що дозволило виявити основні індикатори цих порушень (рис. 1). Так, вхідними воротами на шляху контакту грибів *Candida albicans* із макроорганізмом є ротова порожнина. У здорової людини невелика кількість грибів може визначатися і на поверхні слизової оболонки язика, і у рідких середовищах ротової порожнини та шлунка, але зростання та надмірний ріст відбуваються за рахунок



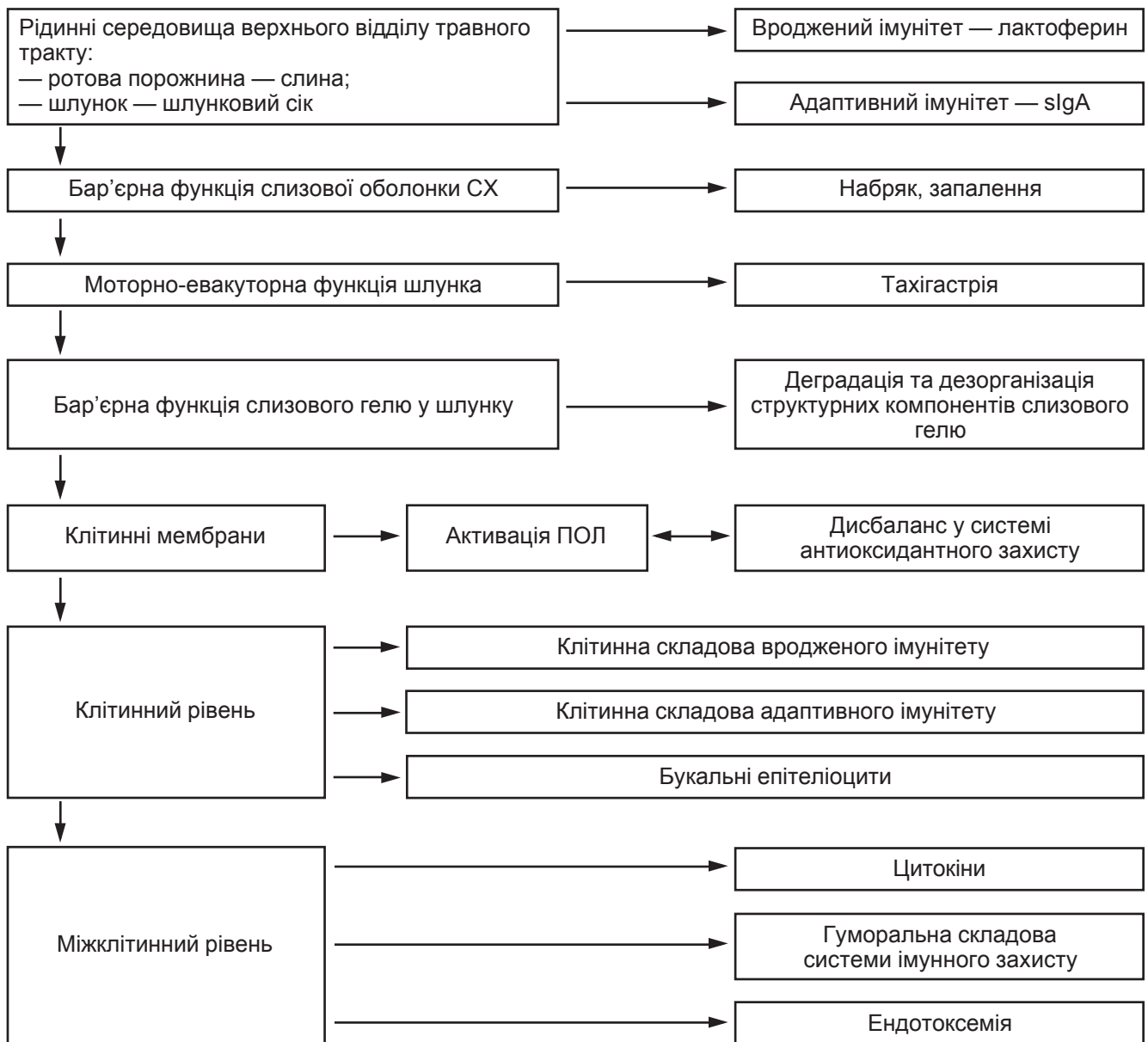


Рис. 1. Рівні порушення бар'єрної функції слизової оболонки

зниження рівня білкового компонента системи вродженого імунітету — лактоферину (табл. 1). Вміст лактоферину був зниженим у пацієнтів з ОФК і поверхневим кандидозом в 1,6 разу порівняно з пацієнтами без кандидозу ($p < 0,001$), а у пацієнтів з інвазією у слизову оболонку СХ і/або шлунка — в 1,5 рази ($p < 0,001$). Вміст лактоферину у шлунковому соку пацієнтів з ОФК та поверхневим кандидозом був зниженим в 1,8 разу, а у хворих з інвазією — в 1,3 разу порівняно з пацієнтами без кандидозу ($p < 0,05$ і $p > 0,05$ відповідно).

На тлі зниження ланки вродженого імунітету запобіганню росту грибів сприяло б підвищення активності гуморальної ланки, але у пацієнтів із кандидозом обох груп не виявлено активації секреторного IgA у слині, а у шлунковому соку його рівень був навіть меншим, порівняно з контролем, у 2,8 та 1,7 разу ($p < 0,01$ і $p < 0,05$ для кожної групи відповідно). Отже, слабкість опору інфекції вже на першому етапі зумовлює зростання кількості патогену при надходженні в макроорганізм.

Персистенція грибів у ротовій порожнині зумовлює над-

ходження їх у просвіт шлунка та шлунковий сік із течією слини при проковтуванні, минаючи при цьому просвіт СХ. Адгезія грибів на слизову оболонку СХ відбувається на тлі запальних змін, які виявляли у 1,6 разу частіше у пацієнтів з інвазією грибів у слизову оболонку ($p < 0,05$), причому тільки у цій групі діагностували езофагіт із запаленням 3-го ступеня та ерозуванням (4,17 %) за даними макроскопічного обстеження. Мікроскопічне обстеження також підтвердило запальні зміни слизової оболонки СХ, переважно мінімального ступеня вираженості у паці-



Основні імунологічні та біохімічні показники в обстежених хворих за групами, M±m

Показник	1-ша група	1А підгрупа	2-га група	3-тя група	Контроль
Лактоферин у слині, нг/мл	9673,00± ±1197,91*###	6716,00± ±624,77###**	10200,88± ±1517,21##	15331,00± ±211,00***	12531,00± ±132,20
slgA у слині, мг/л	478,21±70,31	331,97±114,77	391,05±76,82	490,00±58,00*	309,30±54,20
Лактоферин у шлунковому соку, нг/мл	2926,91± ±1003,54*	1439,70± ±601,63***	3976,23± ±1540,53	5320,37± ±2926,27	5110,00± ±102,70
slgA у шлунковому соку, мг/л	67,93±33,70**	43,97±39,58**	113,06±35,94*	210,50±116,45	190,40±15,40
Пепсин у шлунковому соку, мг/мл	0,949±0,089**	0,736±0,158	0,824±0,108	0,925±0,117*	0,630±0,040
Глікопротеїни у шлунковому соку, мг/мл	0,060±0,003	0,053±0,004\$	0,071±0,007	0,064±0,014	0,060±0,003
Фукоза у шлунковому соку, мг/мл	1,021±0,037*	0,920±0,070**	1,059±0,054	0,972±0,056*	1,131±0,031
Сіалові кислоти у шлунковому соку, мг/мл	0,245± ±0,020***	0,169± ±0,009***\$	0,238±0,020***	0,211±0,022***	0,082±0,011
Гексозаміни у шлунковому соку, мг/мл	0,780±0,069###	0,724±0,086*	0,738±0,065###	0,498±0,060***	0,912±0,041
АОА сироватки крові, %	37,30±1,57*	43,02±5,17	37,42±1,84*	39,58±2,36	43,70±1,75
Церулоплазмін, мг/мл	352,57±12,77**	397,99±41,71*	358,03±13,60**	359,06±20,81*	308,80±8,79
Каталаза, мкМоль/хв·мг·Нв	1105,89±31,65	1109,81±73,00	1135,07±50,26	1102,48±78,99	1149,60±49,30
СОД, ум.од.	50,00±2,56***	56,14±4,86**	52,01±3,52***	53,29±5,56***	30,30±1,22
МДА, мМоль/мл	2,80±0,21**	3,07±0,72	2,59±0,17*	2,49±0,22	2,07±0,13
ДК, в. од./мл, гепт. фаза	0,90±0,09*	0,75±0,90	0,82±0,07*	0,83±0,19	0,67±0,03
ДК, в. од./мл, ізопр. фаза	1,60±0,12	1,57±0,37	1,92±0,25	1,69±0,07	1,53±0,08
ФНП-α, пг/мл	48,64±19,49	143,22± ±59,39**\$	24,17±7,83	26,92±24,81	22,90±3,30
IL-1β, пг/мл	6,81±2,63*	22,56±20,30	2,62±0,58	2,77±1,97	1,61±0,22
IL-8, пг/мл	69,26±14,47**	178,10± ±50,02**\$	73,50±17,55**	67,48±40,66	26,01±2,62
IL-4, пг/мл	1,54±0,14***	1,14±0,36***	1,37±0,14***	1,52±0,38***	4,59±0,32
IL-6, пг/мл	11,68±4,29	44,16±16,72*#	10,44±3,80	5,03±1,69	9,70±2,24

Примітка. * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ — вірогідність різниці з контролем; # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$, ### — $p < 0,001$ — вірогідність різниці порівняно з 3-ю групою; \$ — $p < 0,05$, \$\$ — $p < 0,01$ — вірогідність різниці порівняно із 2-ю групою.

ентів з ОФК і поверхневим кандидозом слизової оболонки, при збільшенні середнього та вираженого ступеня тяжкості запалення при інвазії в 1,9 разу ($p < 0,05$) на тлі збільшення середньої висоти базального шару епітелію ($p < 0,05$).

Сприятливі умови для розвитку грибів *Candida albicans* у шлунку формуються в умовах зниженого вмісту лактоферину та відсутності достатнього рівня секреторного IgA у шлунко-

вому соку на тлі розвитку моторно-евакуаторних розладів у обстежених хворих, що проявляються подовженням тривалості дуоденогастрального рефлюксу у пацієнтів із ОФК і поверхневим кандидозом та у підгрупі пацієнтів з поверхневим кандидозом у 2,5 та 3,0 разу — (11,94±3,00) і (14,65±4,48) хв порівняно з хворими без кандидозу — (4,83±2,01) хв ($p < 0,05$ і $p < 0,05$ відповідно). У пацієнтів з інвазією слизової

оболонки збільшення антигенного навантаження на слизову оболонку зумовлює зростання тахігастрії у 3,3 разу порівняно з пацієнтами з більш легким перебігом кандидної інфекції ($p < 0,001$). Наявність тахігастрії та дуоденогастрального рефлюксу тісно пов'язана з розвитком структурної деградії муцину на поверхні слизової оболонки шлунка, що проявляється кореляційними зв'язками з індексами, які відображують



співвідношення структурних компонентів слизового гелю, та у цілому — співвідношеннями фактора агресії пепсину та глікопротеїнів у шлунковому соку (рис. 2).

Порушення слизового бар'єру зумовлюють збільшення росту, адгезії та інвазії грибів у слизову оболонку тіла шлунка. При дослідженні виявлено збільшення активності пепсину в групі хворих з ОФК і поверхневим кандидозом та підгрупі з поверхневим кандидозом на 50,63 і 46,82 %, порівняно з контролем ($p < 0,01$ і $p < 0,05$ відповідно), а у пацієнтів з інвазією таке підвищення не набуло вірогідності ($p > 0,05$). Загальний вміст глікопротеїнів у хворих був достатнім, але спостерігалось зниження гідрофобного компонента слизового гелю фукози та гексозамінів при підвищеному вмісті сіалових кислот у шлунковому соку. Такий дисбаланс відобразився на значеннях співвідношень структурних компонентів, причому зниження фукози зумовило дисбаланс індексів глікопротеїн/фукоза та гексозамін/фукоза порівняно з контролем, які корелюють з наявністю поверхневого та інвазивного росту грибів у тілі шлунка ($r = 0,237$; $p = 0,021$ і $r = 0,235$; $p = 0,034$; $r = 0,280$; $p = 0,007$ і $r = 0,267$; $p = 0,026$ відповідно).

Очевидно, що відсутність повноцінного слизового бар'єру зумовлює зростання адгезії грибів до епітеліоцитів та поглиблює перебіг кандидної інфекції у верхньому відділі шлунково-кишкового тракту, а розвиток тахігастрії внаслідок антигенного навантаження робить неможливим його відновлення. У свою чергу, збільшенню адгезії сприяють і ураження клітинних мембран епітеліоцитів, які розвиваються під впливом інтенсифікації процесів ПОЛ у обстежених хворих і накопичення первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення (див. табл. 1).

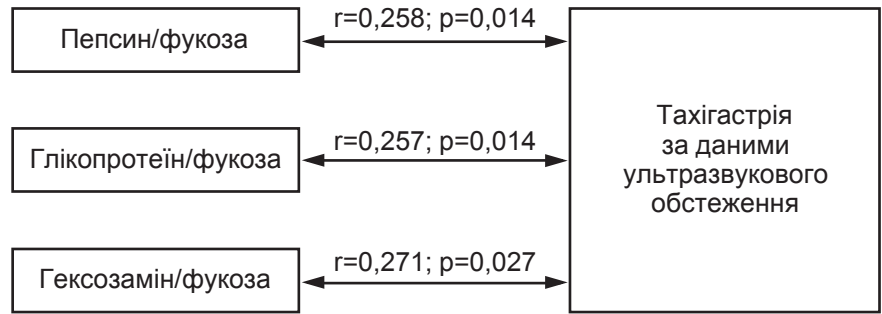


Рис. 2. Взаємозв'язок тахігастрії з дисбалансом агресивного та протекторних факторів слизового бар'єру

Так, концентрація ДК гептаної фази у хворих з ОФК і поверхневим кандидозом та інвазією підвищена на 34,32 та 22,38 % порівняно з контролем ($p < 0,05$ і $p < 0,05$ відповідно), а вміст МДА — на 35,26 і 25,12 % порівняно з контролем ($p < 0,01$ та $p < 0,05$ відповідно). При цьому активізації СОД, виявленої у всіх групах з кандидозом, недостатньо для усунення наслідків ліпопероксидації, оскільки не відбувається активації іншого ферменту — каталази — в усіх групах обстежених хворих. Такий дисбаланс зумовлює збереження перекису водню у клітинах, що посилює деструктивні процеси. Усі ці процеси спричиняють зниження резервів АОА сироватки крові у пацієнтів з ОФК та поверхневим кандидозом на 12,77 ($p < 0,05$) і у пацієнтів з інвазією слизової оболонки на 14,37 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Клітинний рівень порушень бар'єрної функції макроорганізму проявляється дефіцитом

Т-лімфоцитарної ланки системи імунітету, більш глибокі дефекти якої є характерними для пацієнтів з інвазивною формою кандидозу слизової оболонки. Формування нейтрофільно-лімфоцитарного типу імунної відповіді з підвищенням індексу лейкоцити/CD3+ до меж первинного імунодефіциту є характерним саме для пацієнтів цієї групи (рис. 3).

При зниженні абсолютного вмісту Т-хелперів у обстежених групах у пацієнтів з інвазією їх вміст був значно меншим, порівняно з пацієнтами з ОФК та поверхневим кандидозом, на 21,82 % ($p < 0,01$), як і вміст Т-супресорів — на 17,86 % ($p < 0,05$). Відповідно у пацієнтів із кандидозом слизової оболонки верхнього відділу травного тракту спостерігалось зниження імунорегуляторного індексу Т-хелпери/Т-супресори на 15,94 і 17,87 % порівняно з контролем ($p < 0,01$ та $p < 0,01$) для 1-ї та 2-ї груп відповідно. Також клітинна ланка вродженого імунітету за оцін-

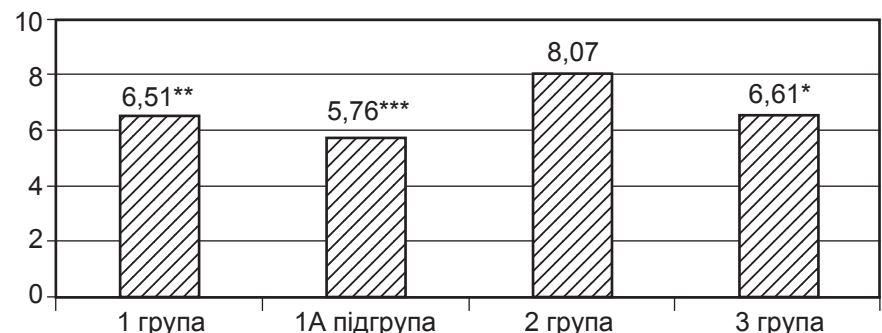


Рис. 3. Співвідношення лейкоцитів/Т-лімфоцитів за групами: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ — вірогідність різниці порівняно з 2-ю групою



кою рівня CD16+ — натуральних кілерів — була значно нижчою у пацієнтів з інвазією — $(0,26 \pm 0,02) \cdot 10^9/\text{л}$ порівняно з хворими з ОФК та поверхневим кандидозом — $(0,32 \pm 0,02) \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$) і з групою пацієнтів без кандидозу — $(0,57 \pm 0,14) \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Значущим фактором, який відіграє найважливішу роль у розвитку кандидозу слизової оболонки верхнього відділу травного тракту, є здатність епітеліоцитів верхнього відділу травного тракту до адгезії *Candida albicans*, яку вивчено за допомогою БЕ обстежених хворих *in vitro* шляхом оцінки трьох індексів, які її відображують. Згідно з показником СПАБЕ, у хворих з гастроентерологічною патологією здатність одного БЕ адгезувати на собі більшу кількість *Candida albicans* знаходилась у межах середнього ступеня адгезивності. Кількість епітеліоцитів, задіяних у процесі адгезії за показником КБЕ у хворих з інвазією грибів у слизову оболонку становить $(59,80 \pm 3,59) \%$ і значно перевищує такий показник у групі з ОФК і поверхневим кандидозом — $(48,50 \pm 3,24) \%$ та у підгрупі з поверхневим кандидозом — $(45,00 \pm 4,94) \%$ у 1,2 і 1,3 рази ($p < 0,05$ і $p < 0,05$ відповідно). При цьому середнє значення узагальнюючого показника ІАМБЕ було в 1,3 і 1,6 рази вищим ($p < 0,05$) також у хворих з інвазією порівняно з хворими з ОФК і поверхневим кандидозом (рис. 4).

Міжклітинний рівень порушення бар'єрної функції слизової оболонки верхнього відділу шлунково-кишкового тракту характеризується підвищенням рівня IL-8 у пацієнтів із кандидозом слизової оболонки верхнього відділу травного тракту у 2,7 та 2,8 рази, порівняно з контролем ($p < 0,01$ та $p < 0,01$ відповідно для обох груп), та зниженим рівнем IL-4 в усіх хворих з гастроентерологічною патологією порівняно

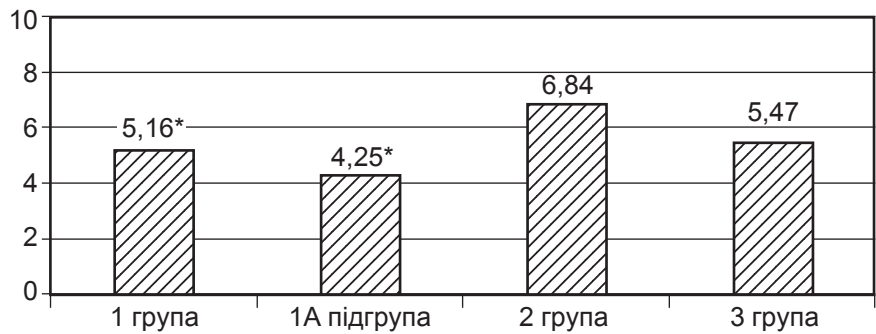


Рис. 4. Середнє значення індексу адгезивності мікроорганізму референтного штаму до букальних епітеліоцитів за групами: * — $p < 0,05$ — вірогідність різниці порівняно з 2-ю групою

з контролем ($p < 0,001$; $p < 0,001$ та $p < 0,001$ відповідно; див. табл. 1). Відмінностями цитокінового балансу у пацієнтів з поверхневим кандидозом є підвищення ФНП- α та IL-6 без підвищення IL-4, а у хворих з інвазивним — відсутність активації ФНП- α та IL-6, що свідчить про відмінності у формуванні імунної відповіді на антиген *Candida albicans* в обстежених пацієнтів цих груп. Особливостями гуморальної імунної відповіді при кандидозі слизової оболонки верхнього відділу травного тракту є надмірний рівень IgE — $(360,49 \pm 87,43)$ пг/мл при більш тяжкій формі кандидозу слизової оболонки, порівняно із хворими з ОФК та поверхневою формою — $(165,23 \pm 44,61)$ пг/мл ($p < 0,01$). Усі ці процеси відбуваються на тлі високого рівня ендотоксемії та запалення, виявлених у всіх хворих з гастроентерологічною патологією.

Висновки

1. Розвиток кандидозу слизової оболонки верхнього відділу травного тракту відбувається за умов зниження бар'єрної функції, що є результатом комплексного впливу порушень у функціонуванні систем вродженого і адаптивного імунітету, структурної неповноцінності слизового гелю, ушкодження клітинних мембран унаслідок дисбалансу у системі перекисного окиснення ліпідів і антиоксидатного захисту, цитокінового дисба-

лансу на фоні ендотоксемії та запалення.

2. Важливим аспектом у системі бар'єрної функції є здатність букальних епітеліоцитів хворих до адгезії *Candida albicans* як самостійного патогенетичного фактора, зі збільшенням якого асоціюється зростання тяжкості кандидозу слизової оболонки.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробці адекватних лікувальних заходів для усунення патологічного впливу на слизову оболонку патогенетичних факторів та збільшення ефективності надання медичної допомоги.

ЛІТЕРАТУРА

1. Yan L. Disruption of the intestinal mucosal barrier in *Candida albicans* infections / L. Yan, C. Yang, J. Tang // *Microbiological Research*. – 2013. – Vol. 168. – P. 389–395.
2. Nochi T. Innate Immunity in the Mucosal Immune System / T. Nochi, H. Kiyono // *Current Pharmaceutical Design*. – 2006. – Vol. 12. – P. 4203–4213.
3. *Intestinal barrier: Molecular pathways and modifiers* / M. K. Jeon, C. Klaus, E. Kaemmerer, N. Gassler // *World J. Gastrointest Pathophysiol*. – 2013. – Vol. 15, N 4 (4). – P. 94–99. doi:10.4291/wjgp.v4.i4.94.
4. *Restoration of Barrier Function in Injured Intestinal Mucosa* / A. T. Blikslager, A. J. Moeser, J. L. Gookin [et al.] // *Physiol Rev*. – 2007. – Vol. 87. – P. 545–564. doi: 10.1152/physrev.00012.2006.
5. Al-Sadi R. Mechanism of cytokine modulation of epithelial tight junction barrier / R. Al-Sadi, M. Boivin, T. Ma // *Front. Biosci*. – 2009. – Vol. 14. – P. 2765–2778.



6. Capaldo C. T. Cytokine regulation of tight junctions / C. T. Capaldo, A. Nusrat // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2009. – Vol. 1788 (4). – P. 864–871.

7. Suzuki T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions / T. Suzuki // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2013. – Vol. 70. – P. 631–659. doi 10.1007/s00018-012-1070.

8. Marchiando A. M. Epithelial barriers in homeostasis and disease / A. M. Marchiando, W. V. Graham, J. R. Turner // *Annu. Rev. Pathol.* – 2010. – Vol. 5. – P. 119–144.

9. Catalioto R.-M. Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction in Disease and Possible Therapeutic Interventions / R.-M. Catalioto, C. A. Maggi, S. Giuliani // *Current Medicinal Chemistry.* – 2011. – Vol. 18. – P. 398–426.

10. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases / A. Bhattacharyya, R. Chattopadhyay, S. Mitra, S. E. Crowe // *Physiol Rev.* – 2014. – Vol. 94. – P. 329–354. doi:10.1152/physrev.00040.2012.

11. Oxidant-induced intestinal barrier disruption and its prevention by growth factors in a human colonic cell line: role of the microtubule cytoskeleton / A. Banan, S. Choudhary, Y. Zhang [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28 (5). – P. 727–738.

12. Groschwitz K. R. Intestinal Barrier Function: Molecular Regulation and

Disease Pathogenesis / K. R. Groschwitz, S. P. Hogan // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 124 (1). – P. 3–22. doi:10.1016/j.jaci.2009.05.038.

REFERENCES

1. Yan L., Yang C., Tang J. Disruption of the intestinal mucosal barrier in *Candida albicans* infections. *Microbiological Research* 2013; 168: 389-395.

2. Nochi T., Kiyono H. Innate Immunity in the Mucosal Immune System. *Current Pharmaceutical Design* 2006; 12: 4203-4213.

3. Jeon M.K., Klaus C., Kaemmerer E., Gassler N. Intestinal barrier: Molecular pathways and modifiers. *World J. Gastrointest Pathophysiol.* 2013; 15; 4 (4): 94–99. doi:10.4291/wjgp.v4.i4.94.

4. Blikslager A.T., Moeser A.J., Gookin J.L., Jones S.L., Odle J. Restoration of Barrier Function in Injured Intestinal Mucosa. *Physiol. Rev.* 2007; 87: 545–564 2007; 10.1152/physrev.00012.2006.

5. Al-Sadi R., Boivin M., Ma T. Mechanism of cytokine modulation of epithelial tight junction barrier. *Front. Biosci.* 2009; 14: 2765-2778.

6. Capaldo C.T., Nusrat A. Cytokine regulation of tight junctions. *Biochim. Biophys. Acta* 2009; 1788 (4): 864-871.

7. Suzuki T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013; 70:

631-659. doi 10.1007/s00018-012-1070.

8. Marchiando A.M., Graham W.V., Turner J.R. Epithelial barriers in homeostasis and disease. *Annu. Rev. Pathol.* 2010; 5: 119-144.

9. Catalioto R.-M., Maggi C.A., Giuliani S. Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction in Disease and Possible Therapeutic Interventions. *Current Medicinal Chemistry* 2011; 18: 398-426.

10. Bhattacharyya A., Chattopadhyay R., Mitra S., Crowe S.E. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol. Rev.* 2014; 94: 329-354, doi:10.1152/physrev.00040.2012.

11. Banan A., Choudhary S., Zhang Y., Fields J.Z., Keshavarzian A. Oxidant-induced intestinal barrier disruption and its prevention by growth factors in a human colonic cell line: role of the microtubule cytoskeleton. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28 (5): 727-738.

12. Groschwitz K.R., Hogan S.P. Intestinal Barrier Function: Molecular Regulation and Disease Pathogenesis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 124 (1): 3-22. doi:10.1016/j.jaci.2009.05.038.

Надійшла 28.12.2016

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Т. В. Чабан

УДК 616.31.-002.152-06:616.316-008.8-074/-078]-77

Ю. Г. Романова, А. В. Біда

ОЦІНКА ДИНАМІКИ БІОХІМІЧНИХ ТА ІМУНОЛОГІЧНИХ МАРКЕРІВ РОТОВОЇ РІДИНИ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХРОНІЧНИМ ГЕРПЕТИЧНИМ СТОМАТИТОМ, ЯКІ ПОТРЕБУЮТЬ ДЕНТАЛЬНОЇ ІМПЛАНТАЦІЇ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616.31.-002.152-06:616.316-008.8-074/-078]-77

Ю. Г. Романова, А. В. Беда

ОЦЕНКА ДИНАМИКИ БИОХИМИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕРПЕТИЧЕСКИМ СТОМАТИТОМ, НУЖДАЮЩИХСЯ В ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

Приведены результаты оценки динамики биохимических и иммунологических маркеров ротовой жидкости у пациентов с хроническим герпетическим стоматитом, нуждающихся в дентальной имплантации. Выявленные изменения биохимических маркеров ротовой жидкости у больных с хроническим герпетическим стоматитом, нуждающихся в дентальной имплантации, свидетельствуют о наличии воспалительного процесса, дестабилизации системы перекисного окисления липидов и нарушении местного иммунного ответа, что требует соответствующей специфической медикаментозной коррекции.

Ключевые слова: хроническая герпетическая вирусная инфекция, дентальная имплантация.

