

## ORIGINALNI NAUČNI RADOVI

### REKURENTNA GENITALNA KANDIDOZA ŽENA - HUMORALNI IMUNITET

Suzana TASIĆ, Nataša MTLADINOVIĆ, Gordana TASIĆ, Aleksandar TASIĆ,  
Predrag VLAHOVIĆ, Miloš STOJANOVIĆ i Predrag STOJANOVIĆ  
*Institut za zaštitu zdravlja u Nišu*

Prva istraživanja imuniteta vaginalne mukoze kod žena bila su posvećena ispitivanju humoralnog imuniteta.

Do danas je malo studija sa ciljem ispitivanja uloge specifičnih serumskih i sekretornih imunoglobulina urađeno kod žena sa rekurentnom genitalnom kandidozom (RGK).

Detekcijom antiCandida TgG i TgA antitela u krvi ispitivanih žena utvrditi eventualno uzročno-posledičnu vezu između nalaza specifičnih imunoglobulina i nalaza gljiva roda Candida u genitalnom traktu žena, bio je cilj ovog rada.

Ispitivanu test grupu za serološke analize činilo je 60 žena sa RGK koje su imale pozitivan nalaz vrste Candida albicans u vaginalnom sekretu. Za kontrolnu grupu izabrano je 60 žena bez nalaza Candida sp. infekcije/kolonizacije genitalnog trakta.

Specifična antiCandida IgG i IgA antitela u krvi ispitivanih žena utvrđena su nestandardizovanim indirektnim imunofluorescentnim testom.

Specifična antiCandida TgG antitela dokazana su kod 90% žena sa RGK i kod 45% žena kontrolne grupe. TgA specifični imunoglobulini utvrđeni su kod 12 žena test grupe i samo kod jedne žene kontrolne grupe.

Niži titar TgG antitela dokazan je kod približno istog broja žena obe ispitivane grupe.

Visi titar TgG antitela dokazan je kod znatno većeg broja žena sa hroničnom gljivičnom genitalnom infekcijom (34) u odnosu na žene kontrolne grupe (9).

*Ključne reci:* rekurentna genitalna kandidoza, humoralni imunitet

#### Uvod

Uloga humoralnog imuniteta u zaštiti mukoze od genitalne gljivične infekcije još uvek nije dovoljno ispitana.

In vitro analize ukazuju da specifična antiCandida antitela, uz učešće komplementa, mogu imati fungicidno dejstvo (*Fidel and Sobel, 1996*).

Klinički podaci govore da bolesnici sa deficitom B-limfocita ne oboljevaju od kandidoza. Većina bolesnika sa hroničnom mukokutanom kandidozom ima normalan ili povišen nivo specifičnih imunoglobulina kako u serumu, tako i na mukozama. U toku gljivičnih infekcija smatra se da su serumski IgG i sekretorni TgA najdominantniji imunoglobulini. Sekretorna TgA antiCandida antitela imaju zaštitnu ulogu jer, vezujući se za mikroorganizme, efikasno sprečavaju adherenciju gljiva za epitel, invaziju tkiva i omogućavaju kolonizaciju vaginalne mukoze malim brojem gljiva roda Candida (Odds, 1982).

Malo je studija, sa ciljem ispitivanja uloge specifičnih serumskih i sekretornih imunoglobulina, urađeno kod žena sa rekurentnim oblikom genitalne kandidoze.

Detekcijom antiCandida IgG i IgA antitela u krvi ispitivanih žena, utvrditi eventualnu uzročno-posledičnu vezu između nalaza specifičnih imunoglobulina i nalaza gljiva roda Candida u genitalnom traktu, bio je cilj ovog rada.

### **Materijal i metode rada**

Ispitivanu grupu (Ti grupa) za serološke analize činilo je 60 žena sa rekurentnom genitalnom kandidozom (RGK) koje su imale pozitivan nalaz C.albicans ili njenog varijeteta, C.stelatoidea, u vaginalnom sekretu.

Kontrolnu grupu činilo je 60 zdravih žena bez nalaza Candida sp. infekcije/kolonizacije genitalnog trakta (Kj grupa).

Specifična antiCandida IgG i IgA antitela(AT) u krvi ispitivanih žena utvrđena su nestandardizovanim indirektnim imunofluorescentnim testom (TFT). Kao konjugat korišćen je antihumani gama-globulin INEP-Zemun.

Antigen za IFT metodu pripremanje od 24-časovne kulture C.albicans na Sabouraud podlozi. Porast gljiva suspenzovan je u destilovanoj vodi, ispiran je i centrifugiran u pet uzastopnih postupaka, nakon čega je gustina suspenzije podešavana na 0,3-0,4  $\mu$ F. Antigenska suspenzija je proveravana mikroskopski radi uočavanja potrebnog pojedinačnog rasporeda i očuvanja čeli jskog integriteta blastospora. Neposredno pre izvođenja reakcije, antigen je pripreman, nanošen na obeležena polja u količini od 25 j.il, sušen spontano na vazduhu i fiksiran u acetonu.

Serumi su u TFT reakciji korišćeni u dvostrukim razblaženjima za TgG od 1 :20 do 1 : 160, a za IgA od 1 :5 do 1 :40.

### **Rezultati ispitivanja**

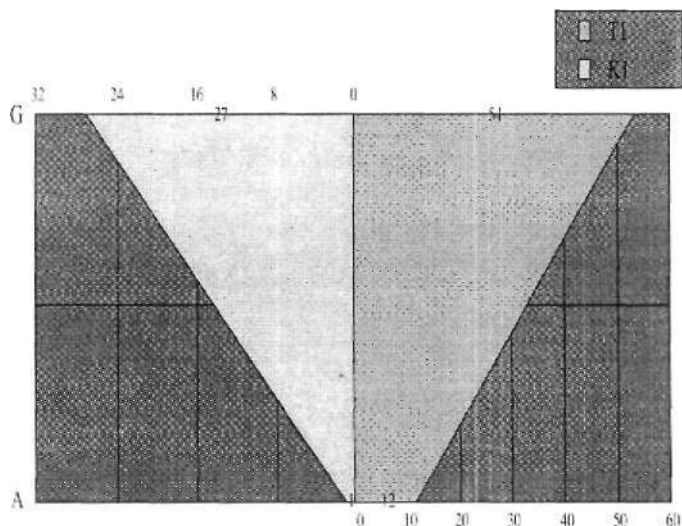
Serološkim istraživanjem obuhvaćene su samo žene. Nalaz specifičnih antiCandida antitela klase IgG i IgA kod ispitivanih žena prikazanje na tabeli 1. Indirektnim imunofluorescentnim testom specifična IgG antitela dokazana su kod 90% žena sa RGK i kod 45% žena kontrolne grupe (statistički značajna

Razlika  $p < 0,0000001$ ). IgA specifični iminoglobulini u titru (1 :5) utvrđeni su kod 12 žena test grupe i samo kod jedne žene K<sub>1</sub> grupe (statistički značajna razlika  $p < 0,005$ ).

Tabela 1. Nalaz specifičnih anticandida IgG i IgA antitela u serumu ispitivanih žena

	Broj pregleda	AT		G-AT		A-AT	
		n	%	n	%	n	%
T,	60	54*	90.00	54	90.00	12+	20.00
K,	60	27	45.00	27	45.00	1	1.67

AT - antitela, G - anticandida IgG, A- anticandida IgA \*  
statistički značajna razlika  $p < 0,0000001$  + statistički značajna razlika  $p < 0,005$



Grafikon 1. Nalaz specifičnih anticandida IgG i IgA antitela u serumu ispitivanih žena

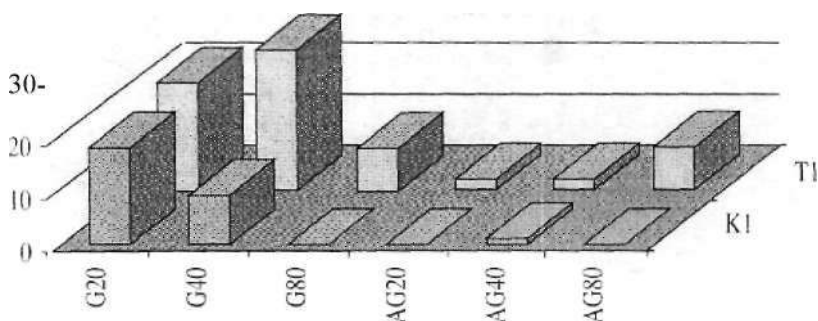
Niži titar IgG antitela (1:20) utvrđen je kod približnog broja žena obe grupe (T<sub>1</sub>-20 i K<sub>1</sub>-18). Viši titar antiCandida TgG AT dokazan je kod znatno većeg broja žena sa RGK (34) u odnosu na žene kontrolne grupe (9 statistički značajna razlika  $p < 0,001$ ) (grafikon 1).

Postoji značajna razlika u nalazu obe klase specifičnih imunoglobulina među ispitivanim grupama. Udružen nalaz antiCandida IgG i IgA antitela dokazan je kod 12 žena (20,00%) sa RGK i samo kod jedne žene kontrolne grupe (1,67%). Kod 8 (13,33%) žena sa RGK utvrđeno je prisustvo IgA specifičnih antitela i viši titar IgG-1:80. U znatno nižem procentu udružen nalaz specifičnih imunoglobulina je potvrđen i pri nižem titru IgG antitela (T<sub>1</sub>: AG20-3,33%; AG40-3,33%; K<sub>1</sub>:AG40-1,67%) (tabela 2, grafikon 2).

Tabela 2. Titar anticandida IgG antitela i udruženi nalaz specifičnih IgG i IgA u serumu ispitivanih žena

		G		G		G		AG		AG40		AG80	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
T!	60	20	33,33	26*	43,33	8 <sup>+</sup>	13,33	7	3,33	0	3,33	8 <sup>+</sup>	13,33
K,	60	18	30,00	9	15,00	0	0,00	0	0,00	0	1,67	0	0,00

G- anticandida IgG u titra 1/20; 1/40; 1/80, A - anticandida IgA \*  
 statistički značajna razlika  $p < 0,001$  + statistički značajna razlika  
 $p < 0,005$



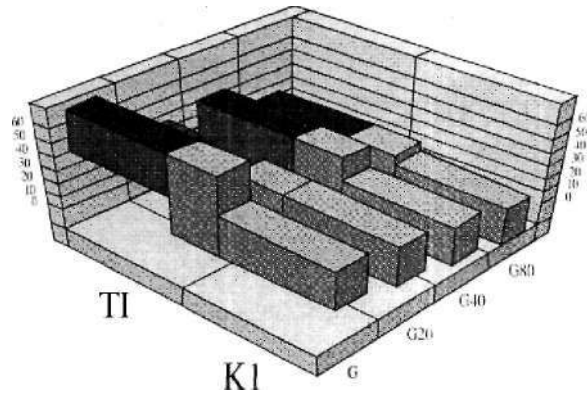
Grafikon 2. Titar anticandida IgG antitela i udruženi nalaz specifičnih IgG i IgA u serumu ispitivanih žena

Titar specifičnih antiCandida IgG antitela u krvi ispitivanih žena u odnosu na broj pozitivnog nalaza TgG antitela prikazan je na tabeli 3 i grafikonu 3. Viši titar antiCandida TgG antitela zabeležen je kod 34, dok je samo 9 žena kontrolne grupe imalo titar TgG antitela iznad 1 :20. Značajno veći broj žena test grupe ima povišen titar IgG antitela (34; 62,96%), dok je kod žena kontrolne grupe u većem broju slučajeva dokazan niži titar specifičnih IgG AT (18; 66,67%).

Tabela 3. Titar antiCandida IgG antitela u odnosu na broj pozitivnog nalaza TgG antitela

	G	GŽO		G40		G80	
	n	n	%	n	%	n	%
	54	20	37,04	26	48,15	8*	14,81
K,	27	18*	66,67	9	33,33	0	0,00

G-antiCandida IgG u litra 1/20; 1/40; 1/80  
 \*statistički značajna razlika  $p < 0,05$



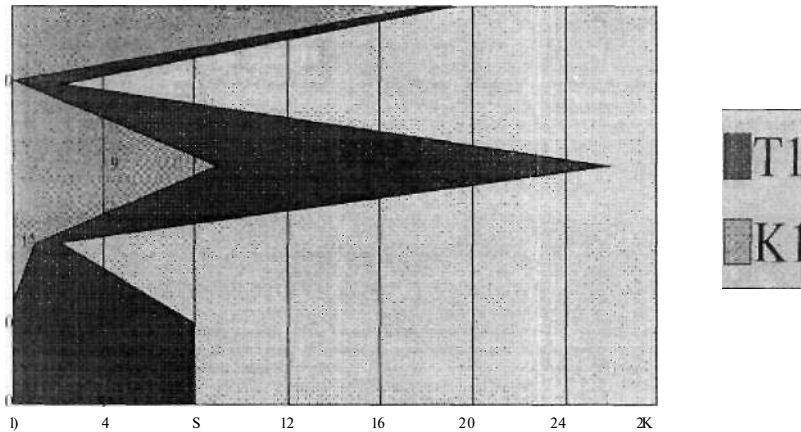
Grafikon 3. Titar antiCandida IgG antitela u odnosu na broj pozitivnog nalaza TgG antitela

Kod svih bolesnica sa TgG u titru 80, utvrđeno je i prisustvo specifičnih TgA imunoglobulina, dok je samo u po dva slučaja test grupe niži titar TgG AT (G20-10,00%; G40-7,69%) bio praćen i nalazom antiCandida TgA antitelima. Samo kod jedne žene kontrolne grupe utvrđeno je prisustvo TgA antitela pri titru IgG imunoglobulina 1 :40 (tabela 4, grafikon 4).

Tabela 4. Udruženi nalaz antiCandida IgG i TgA antitela u odnosu na ukupan broj IgG antitela određenog titra

	G20		G40		G80		AG80	
	Br	%	Br	%	Br	%	Br	%
T!	20	10,00	26	7,69	8	100,00	8	100,00
TI	18	0,00	9	11,11	0	0,00	0	0,00

G - antiCandida IgG u titru 1/20; 1/40; 1/80; A - antiCandida TgA



Grafikon 4. Udruženi nalaz antiCandida TgG i TgA antitela u odnosu na ukupan broj TgG antitela određenog titra

## Diskusija i zaključak

Tmundska istraživanja, sa ciljem utvrđivanja uloge humoralnog imuniteta u nastanku gljivičnih infekcija, bila su u početku zaokupljena analiziranjem mogućih zaštitnih faktora u serumu ljudi i životinja. Velika grupa autora pojavila se u naučnoj javnosti sa podacima o uspešnosti različitih oblika imunizacije pomoću antiCandida antitela. *Dobias* je veliki broj ovih radova objedinio i analizirajući ih istakao sve nedostatke, protivurečnosti i nedorečenosti ovih, "uspešnih" procedura imunizacije (*Rich*, 1996).

Tako su mnogi autori navodili fungicidni efekat humanog seruma, smatra se da mogućnost nespecifične aglutinacije micelijumske forme gljiva u serumu može stvarati lažnu impresiju o eventualnim zaštitnim mehanizmima seruma (*Marodi et al.*, 1991; *Mathur et al.*, 1977).

Danas se pouzdano zna da su Candida antigeni sposobni da indukuju specifična antitela i da serumska antiCandida antitela, uz učešće komplemenata, mogu imati fungicidni efekat u uslovima in vitro. Ali bez obzira na utvrđene činjenice, takođe, zna se da bolesnici sa deficijencijom funkcije humoralnog imuniteta ne boluju od čestih gljivičnih infekcija (*Fidel and Sohe l*, 1996; *Vamamura and Valdimarsson*, 1977).

O zaštitnoj ulozi antiCandida IgA antitela još uvek se polemše. Naime, dobijeni su kontradiktorni podaci u ispitivanju uloge ovih sekretornih imunoglobulina u nastajanju mukokutanih kandidoza. Mogući razlog je dokazana uloga nekih proteinaza Candida sp. koje mogu da vrše hidrolizu sekretornih IgA in vitro, a dokazane su i in vivo (*Syverson et al.*, 1979).

*Mendling and Koldovsky* (1996) i *Bohler et al.* (1994) nisu u svojim odvojenim istraživanjima otkrili odstupanja u nivou ukupnih IgA sekretornih ni serumskih imunoglobulina kod žena sa RGK. Ovi autori nisu utvrdili ni odnos kauzaliteta između nalaza imunoglobulina klase A različite anatomske distribuiranosti. Korišćenjem nestandardizovanog imunofluorescentnog testa za detekciju antiCandida IgA antitela u sekretu žena, ovi autori nisu dokazali postojanje razlike kod žena sa RGK u odnosu na kontrolne grupe zdravih žena.

Najzanimljivija studija urađena na eksperimentalnim animalnim modelima je pokušaj *Pollonelli-o. et al.* (1994) da intravaginalnom idiotip-imunizacijom zaštititi vaginalnu mukozu pacova od gljivične infekcije. Ovaj autor je dokazao da intravaginalna idiotip-imunizacija, pomoću toksinom gljiva markiranih mišjih antitela klase IgG1, dovodi do produkcije Candida antiidiotip antitela IgA klase u vaginalnom sekretu pacova. Ova antitela u sekretu pacova smanjuju broj gljiva roda Candida, in vitro imaju fungicidni efekat, a ukoliko se prenesu i vaginalno aplikuju neimunizovanim pacovima štite ih od genitalne kandidoze, odnosno njima je moguće pasivno imunizovati životinju.

Bolesnice sa rekurentnom vaginalnom kandidozom imaju nalaz povišenog titra ukupnih serumskih imunoglobulina klase A i sekretornih anti-Candida IgA antitela (*Fischer et al.*, 1978; *Kirkpatrick et al.*, 1971; *Peterson et al.*, 1971; *Rich*, 1996).

Svakako, treba pomenuti da bolesnici sa hroničnom mukokutanom kandidozom u najvećem broju slučajeva imaju normalnu produkciju anti-Candida IgA antitela (*Fischer et al.*, 1978; *Kirkpatrick et al.*, 1971; *Peterson et al.*, 1971; *Rich*, 1996),

Serološkim istraživanjem u našem radu dokazano je da deficit anti-Candida serumskih TgG i IgA antitela ne postoji u žena sa RGK, već je kod žena test grupe utvrđen viši titar IgG antitela. Nalaz serumskih, specifičnih IgA imunoglobulina bio je češći kod žena sa dugotrajnim gljivičnim infekcijama.

Specifična serumska TgG antitela dokazana su kod značajno većeg procenta žena sa RGK (90) u odnosu na kontrolnu grupu (45). Serumaska anti-Candida IgA antitela detektovana su u niskom titru (1:5) i otkrivena su kod 12 bolesnica (20%) i samo kod jedne žene kontrolne grupe.

Viši titar specifičnih TgG antitela zabeležen je u znatno većem procentu u serumu žena sa RGK. Titar 1:40 IgG antitela dokazan je kod 26 bolesnica i samo kod 9 žena kontrolne grupe, dok je viši titar 1:80 dokazan samo kod 8 žena sa RGK. Približno isti broj žena test i kontrolne grupe imalo je nalaz specifičnih serumskih IgG antitela u nižem titru (33,33%-A; 30%-B). U odnosu na ukupan broj pozitivnog nalaza anti-Candida TgG antitela, niži titar IgG antitela (1:20) bio je zabeležen u 37,04% žena sa RGK i u 66,67% žena kontrolne grupe, što znači da se kod žena sa genitalnom kandidozom beleži češće prisustvo specifičnih serumskih IgG imunoglobulina, i to u višem titru.

Specifična serumaska IgA antitela detektovana su samo kod IgG pozitivnih bolesnica. Nalaz IgG antitela u višem titru (1:80) bio je uvek praćen i nalazom TgA antitela. Samo u po dva slučaja niži titar IgG antitela (1:20; 1:40) bio je udružen sa nalazom TgA antitela.

Slična istraživanja nisu zabeležena u svetskoj literaturi, tako da je nemoguće uporediti nalaze našeg rada sa rezultatima drugih autora.

Na osnovu nalaza može se istaći jedino to da žene sa RGK imaju u znatnom procentu slučajeva prisutna specifična serumaska antitela, čak i u višem titru u toku manifestacija infekcije od žena kontrolne grupe i da deficijencija humoralnog imuniteta svakako nije uzrok RGK.

O odnosu kauzaliteta između nalaza određenog titra serumskih anti-Candida TgG antitela, nalaza specifičnih serumskih IgA antitela i postojanja manifestne genitalne kandidoze, iz naših rezultata se malo toga može posebno istaći. Kao prvo, u ispitivanju je korišćen nestandardizovani imuno-fluorescentni test. Zatim, kod žena sa RGK nalazi se međusobno razlikuju i nisu značajno različiti od žena kontrolne grupe da bi se mogao utvrditi određeni serološki status u toku vaginalne gljivične infekcije, i IgA antitela otkrivena su u malom broju žena sa RGK, i to u malom titru.

Utvrđen viši titar specifičnih TgG antitela, kao i detekcija antiCandida TgA imunoglobulina u serumu znatno većeg broja žena sa RGK u fazi manifestne vaginalne mikoze, u odnosu na žene kontrolne grupe, potvrđuje da kontinuirano obnavljanje gljivične genitalne infekcije nije posledica deficijencije humoralnog imunskog odgovora.

### Literatura

- Bohler, K., Klade, H., Poitschck, C. and Reinfhaller, A.* (1994). Immunohistochemical study of in vivo and in vitro IgA coating of candida species in vulvovaginal candidiasis. *Genitourin. Med.*, 70, 182-186.
- Fidel, P. L. and Sohel, J. D.* (1996). Immunopatogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 335-348.
- Fischer, A. Ballet, J.J. and GrisceUi, C.* (1978). Specific inhibition of *Candida albicans*-induced lymphocytes proliferation by polysaccharide antigens present in the serum of patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *J. Clin. Invest.*, 62, 1005-1005.
- Kirkpatrick, K. C. H., Rich, R. R. and Bennett, J. E.* (1971). Chronic mucocutaneous candidiasis: modelbuilding in cellular immunity. *Ann. Intern. Med.*, 74, 955-963.
- Marodi, L. Korchak, H. M. and Johnston, R. B.* (1991). Mechanisms of host defense against *Candida* species. Phagocytosis by monocytes and monocyte-derived macrophages. *J. Immunol.*, 146, 2783-2783.
- Mathur, S., Virella, G., Koistinen, J., Horgcr, E. O., Mahvi, T. A. and Fudcnberg, H. H.* (1977). Humoral immunity in vaginal candidiasis. *Infect. Immunol.*, 75, 287-294.
- Mendling, W. and Koldovsky, U.* (1996). Immunological investigations in vaginal mycoses. *Mycoses*, 39, 177-183.
- Odds, F. C.* (1982). Genital candidosis. *Clin. Exp. Dermatol.*, 7, 345-349.
- Peterson, P. Y., Scmo, R. and Blumenshein, G.* (1971). Mucocutaneous candidiasis, anergy and a plasma inhibitor of cellular immunity: reversal with amphotericin B. *Clin. Exp. Immunol.*, 9, 595-595.
- Polonelli, L., DeBernardis, F., Confì, S., Boccancra, M., Gerloni, M., Morcice, G., Magliani, W., Chezzi, C. and Cassone, A.* (1994) Idiotypic intravaginal vaccination to protect against candidal vaginitis by secretory, yeast killer toxin-like anti-idiotypic antibodies. *J. Immunol.*, 752, 3175-3182.
- Rich, R. R.* (1996). *Clinical immunology. Principles and practice.* Mosby. London.
- Syverson, R.A., Buckl, H., Gihitn, J. and Ryun, J. M. Jr.* (1979). Cellular and humoral immune status in women with chronic *Candida* vaginitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 134, 624-627.
- Vamamura, M., and Valdimarsson H.* (1977). Participation of C3 in intracellular killing of *C. albicans*; *Scand. J. Immunol.*, 6, 591-594.



## **CANDIDOSE GENITALE RECURRENTE DES FEMMES - IMMUNITE HUMORALE**

Suzana TASIĆ, Nataša MTLADTNOVIĆ, Gordana TASIĆ, Aleksandar TASIĆ,  
Predrag VLAHOVIĆ, Miloš STOJANOVIĆ et Predrag STOJANOVIĆ

*Institut pour la protection de la sante de Niš*

Les premieres recherches de l'immunite de la muqueuse vaginale chez les femmes etaient consacree a l'examen de l'immunite humorale. Il y a peu d'etudes sur le role des immunoglobulines specifiques de serum et secretoires chez les femmes avec la candidose genitale recurrente (CGR). Le but de ce travail etait de constater par la detection antiCandida IgG et TgA des anticorps dans le sang des femmes examinees, la liaison eventuellement caudo-consequente entre la trouvaillie des immunoglobulines specifiques et la trouvaillie des fungi du genre Candida dans le tract genital des femmes. Le groupe examine par le test pour les analyses serologiques font 60 femmes avec CGR, dont la trouvaillie etait positive du genre Candida albicans dans la secretion vaginale. On a choisi pour la groupe de controle 60 femmes sans trouvaillie Candida sp. infection/colonisation du tract genital. AntiCandida specifique TgG et IgA des anticorps dans le sang des femmes examinees sont constatees par le test indirect nonstandardise et immunofluorescent. AntiCandida specifique IgG des anticorps dans le sang des femmes examinees est constatee chez 90 pour cent des femmes avec CGR et chez 45 pour cent chez les femmes du groupe de controle. TgA immunoglobulines sont trouves chez 12 femmes du test groupe et seulement chez une femme du groupe de controle. Le titre plus bas de TgG des anticorps est constate chez a peu pres le meme nombre des femmes de deux groupes examinees. Le titre plus haut de TgG des anticorps est constate chez plus grand nombre des femmes avec l'infection fungueuse genitale chronique (34) par rapport aux femmes du groupe de controle (9).

*Les mots des:* Candidose genitale recurrente, immunite humorale

## **RECURRENT WOMEN'S GENITAL CANDIDOSIS - HUMORAL IMMUNITY**

Suzana TASIĆ, Nataša MILADTNOVIĆ, Gordana TASIĆ, Aleksandar TASIĆ,  
Predrag VLAHOVIĆ, Miloš STOJANOVIĆ and Predrag STOJANOVIĆ

*Institute for Health Protection, Niš*

The first explorations of the women's vaginal mucosa were devoted to the humoral immunity study. There are few studies concerning the role of specific serum and secretion immunoglobulins in women with recurrent genital candidosis (RGC). The aim of the paper was to detect the antiCandida TgG and IgA antibodies in the examined women's blood in order to determine a possible causal relation between the

findings of the specific immunoglobulin and those of the fungi of the Candida sort in the women's genital tract. The examined test group for the serological analyses comprised 60 women with the RGC, namely, those having a positive finding of the Candida albicans in their vaginal secretion. The control group consisted of 60 chosen women with no finding of the Candida sp. infection/colonization of the genital tract. The specific antiCandida IgG and IgA antibodies in the examined women's blood were determined by a non standardised indirect immunofluorescent test. The specific antiCandida IgG antibodies were confirmed in 90% of the women with the RGC and in 45% of the control group women. The IgA specific immunoglobulins were found in 12 women of the test group and only in one woman of the control group. The lower titer of the IgG antibodies was proved in approximately the same number of women of both the examined groups. A higher titer of the IgG antibodies was found in a considerably greater number of women with chronic fungi genital infection (34) with respect to the control group women (9).

*Key words:* Recurrent genital candidosis, humoral immunity

Autor: Ass. dr sci Suzana Tasić, specijalista iz mikrobiologije sa parazitologijom, Institut za zaštitu zdravlja u Nišu; kućna adresa: Niš, Voždova2/21.

(Rad je Uredništvo primilo 19. **februara** 2001. godine)