

Генетическая предрасположенность к рецидивирующему течению вульвовагинального кандидоза

Ш.М.Погосян[✉], Е.А.Межевитинова, А.Е.Донников, В.Н.Прилепская, О.В.Бурменская, О.С.Непша, А.А.Быстрицкий
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

Вульвовагинальный кандидоз (ВВК) зачастую встречается у женщин репродуктивного возраста. У 5–10% женщин ВВК развивается рецидивирующий ВВК (РВВК), который характеризуется развитием 4 и более эпизодов ВВК в течение 12 мес. Есть данные, что наряду с известными факторами риска, такими как антибактериальная терапия, сахарный диабет, беременность, в патогенезе развития РВВК важную роль принадлежит генетическим особенностям пациенток и противогрибковому иммунному ответу. Целью настоящего исследования явилось выявление молекулярно-генетических факторов рецидивирования ВВК. Результаты нашего исследования показали, что однонуклеотидный полиморфизм генов IL4, IL1β и CCL2 ассоциирован с рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом и является предрасполагающим фактором для его развития.

Ключевые слова: вульвовагинальный кандидоз, рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз (РВВК), предрасположенность к развитию РВВК, полиморфизм генов, генетические факторы развития РВВК.

[✉]shaqpxos@mail.ru

Для цитирования: Погосян Ш.М., Межевитинова Е.А., Донников А.Е. и др. Генетическая предрасположенность к рецидивирующему течению вульвовагинального кандидоза. Гинекология. 2017; 19 (4): 20–25. DOI: 10.26442/2079-5696_19.4.20-25

Genetic predisposition to a recurrent course of vulvovaginal candidiasis

Sh.M.Pogosyan[✉], E.A.Mezhevitinova, A.E.Donnikov, V.N.Prilepskaia, O.V.Burmenskaia, O.S.Nepsha, A.A.Bystritskiy
V.I.Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Ministry of Health of the Russian Federation. 117997, Russian Federation, Moscow, ul. Akademika Oparina, d. 4

Vulvovaginal candidiasis (VVC) frequently occur in women of childbearing age. 5–10% of these women experience recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC), which is characterized by at least 4 episodes of infection in 12 months. In addition to known risk factors such as antibiotics, diabetes, or pregnancy, host genetic variation and antifungal immune response play a substantial role in the pathogenesis of RVVC. The aim of this study was to identify a molecular-genetic factors of recurrence of VVC. Our results shows that single nucleotide polymorphisms (SNP) in cytokine genes such as IL4, IL1β and CCL2 were associated with recurrent vulvovaginal candidiasis and effect on susceptibility to disease.

Key words: vulvovaginal candidiasis, recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC), predisposition to RVVC, gene polymorphism, genetic factors of RVVC.

[✉]shaqpxos@mail.ru

For citation: Pogosyan Sh.M., Mezhevitinova E.A., Donnikov A.E. et al. Genetic predisposition to a recurrent course of vulvovaginal candidiasis. Gynecology. 2017; 19 (4): 20–25. DOI: 10.26442/2079-5696_19.4.20-25

Вульвовагинальный кандидоз (ВВК) представляет собой грибковое поражение вульвы и слизистой оболочки влагалища и является весьма распространенной патологией в гинекологической практике. По данным Европейского международного союза по борьбе с инфекциями, передаваемыми половым путем – ИППП (International Union against Sexually Transmitted Infections – IUSTI), у женщин с клинической картиной вагинита ВВК диагностируется в 18–30% случаев [1]. Несмотря на то что ВВК в большинстве случаев носит спорадический характер, у 5–8% женщин заболевание приобретает рецидивирующее течение: 4 и более эпизодов обострения в течение 12 мес [2–4]. Некоторые авторы считают ВВК рецидивирующим при наличии 3 и более эпизодов обострения в течение 12 мес [5]. Такие состояния, как некомпенсированный сахарный диабет, беременность, иммуносупрессия, прием комбинированных оральных контрацептивов, антибиотиков, глюкокортикостероидов, резистентность микроорганизма к противогрибковым препаратам, являются факторами риска развития рецидивирующего ВВК (РВВК) [6, 7]. Однако довольно часто РВВК развивается при отсутствии очевидных факторов риска.

В последние годы появляются данные о важной роли генетических особенностей, которые приводят к функциональной неполноценности локального иммунного ответа при грибковой инфекции и рецидивированию заболевания [8–19].

В своем исследовании В.Ferwerda и соавт. показали, что при наличии *Tur238X (c.714T>G)* полиморфизма гена *CLEC7A* (ген, кодирующий дектин-1) у пациентов наблюдаются дефицит дектина-1, нарушение распознавания β-глюкана, чем, по мнению авторов, объясняются сниже-

ние продукции ряда цитокинов (в частности интерлейкинов – IL-17 и IL-23, а также IL-6) и нарушение иммунного ответа по Th17-пути. По данным исследования, у носителей гомозиготного варианта полиморфного локуса (*G/G*) продукция IL-17 была снижена на 50–80% по сравнению с пациентками, имеющими генотип *T/T*, а при наличии гетерозиготного варианта (*T/G*) отмечалась промежуточная продукция провоспалительных цитокинов [20]. Кроме того, есть данные, свидетельствующие, что колонизация ротовой полости и кишечника *Candida albicans* чаще встречалась у пациентов с *T/G*-вариантом полиморфного локуса *c.714T>G* гена *CLEC7A* [19]. Также была показана ассоциация полиморфизма *Gln295X* гена *CARD9* (caspase recruitment domain-containing protein 9 – ген, кодирующий белок семейства каспаз) с рецидивирующим течением кандидоза ротоглотки и/или ВВК [21]. Известно, что *CARD9* участвует в процессах апоптоза, передачи внутриклеточных сигналов активации транскрипционного фактора κB (NF-κB) и тем самым играет важную роль в формировании противогрибкового иммунного ответа.

Установлена ассоциация хронического кандидоза кожи и слизистых оболочек с полиморфизмом (*L412F*) гена *TLR3* (Toll-like receptor – толл-подобный рецептор). Было показано, что при наличии данного полиморфизма у пациентов отмечается снижение продукции интерферона-γ (IFN-γ), что, по мнению авторов, является причиной развития неполноценного противокандидозного иммунного ответа и способствует хронизации процесса [22]. Кроме того, с хроническим кандидозом кожи и слизистых также ассоциирован полиморфизм (*R620W*) гена *PTPN22* (protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22 – ген, кодирующий тирозинфосфатазу), кодирующего белок,

участвующий в передаче сигналов от Т- и В-лимфоцитов. Однако до настоящего времени механизм данной ассоциации не ясен [23].

Описаны также 3 полиморфизма в гене *TLR1*, связанные с развитием кандидемии, предположительно, в результате снижения уровней IL-8 и IFN- γ [10]. Полиморфизм гена, кодирующего лектин, связывающий маннозу (mannose binding lectin – *MBL*), также ассоциирован с РВБК [24, 25].

Существуют данные, позволяющие предположить ассоциацию полиморфизма некоторых генов цитокинов и их рецепторов (IL-2, IL-4, IL-12Rb1) с повышенной восприимчивостью к кандидозной инфекции [10, 14, 26].

Таким образом, в последнее время все чаще появляются данные о роли полиморфизма генов иммунной системы в развитии рецидивирующего кандидоза. Однако результаты исследований весьма противоречивы, а многие вопросы до сих пор остаются без ответа. Из сказанного следует, что проблема ВВК и особенно РВБК нуждается в дальнейшем изучении для лучшего понимания патогенеза заболевания и возможности выбора более обоснованной и правильной тактики ведения пациенток с данной патологией.

Цель настоящего исследования заключалась в выявлении молекулярно-генетических факторов рецидивирования ВВК.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе научно-поликлинического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России.

Под наблюдением находились 94 женщины с различными характерными для вульвовагинитов жалобами (патологические выделения из половых путей, зуд и/или жжение в области вульвы и влагалища, дизурия, диспареуния и т.д.). Все пациентки были подробно проконсультированы и подписали информированное согласие для участия в исследовании. После подписания информированного согласия женщины проходили клинико-лабораторное обследование согласно приказу Минздрава России от 01.11.2012 №572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)". Дополнительно методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени проводились количественное определение состава микрофлоры влагалища (Фемофлор 16) и качественное определение возбудителей урогенитальных инфекций, таких как *Cblamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoea* (ООО «ДНК-Технология», Россия). Выявление возбудителей ИППП являлось критерием исключения, и данные пациентки не были включены в исследование.

ВВК диагностировался при выявлении грибковой инфекции при ПЦР-исследовании и/или микробиологическом исследовании и наличии клинической картины вульвовагинита. ВВК считался рецидивирующим при указании на 4 и более рецидива кандидозного вульвовагинита в течение 1 года [27].

Основываясь на результатах проведенных исследований и данных анамнеза, все пациентки были разделены на 2 группы: 1-ю группу составили женщины с РВБК (n=59), а во 2-ю группу вошли женщины с острым ВВК (n=35), не отмечавшие рецидивирующего течения заболевания.

Для установления молекулярно-генетических факторов рецидивирования ВВК пациенткам проводилось генотипирование по полиморфным локусам генов иммунного ответа: IL4: -33 C>T [rs2070874]; IL4: -589 C>T [rs2243250]; IL4R: -1902 A>G [rs1801275]; IL4: -1098 T>G [rs2243248]; TLR9: -1486 T>C [rs187084]; CCL2: -2578A>G [rs1024611]; IL1A: -4845 G>T [rs17561]; IL1B: -511A>G [rs16944]; IL1B: -31 T>C [rs1143627]; IL1R1: -11970 C>T [rs2234650]; TGF β 1: -869 C>T [rs1982073/rs1800470]; IL10: -1082 G>A [rs1800896]; IL10: -592 C>A [rs1800872]; TLR4: 896 A>G [rs4986790]; TLR2: 597 T>C [rs3804099]. Определение замен одиночных нуклеотидов проводили модифицированным методом «примыкающих проб» с помощью ПЦР в режиме реального

времени с последующим анализом кривых плавления (ООО «ДНК-Технология», Россия). Особенностью метода является получение кривых плавления по двум каналам флуоресценции (FAM и HEX), что повышает достоверность полученных результатов.

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 22 (США) и StatSoft Statistica 13, а также электронных таблиц Microsoft Excel.

Для оценки различий в группах применяли методы непараметрической статистики: тест Манна–Уитни. Для сравнения качественных данных и установления значимых различий между ними использовали тест χ^2 . Поправки Бонферрони применялись для сравнения непрерывных данных между группами. Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне достоверности $p < 0,05$.

Для сравнения бинарных данных мерой сравнения явилось отношение шансов (ОШ) с использованием метода логистической регрессии с построением ROC-кривой для контроля множественных конфаундеров. Проверка значимости отличия коэффициентов от нуля проводилась при помощи статистики Вальда, использующей распределение χ^2 , которая представляет собой квадрат отношения соответствующего коэффициента к его стандартной ошибке.

Для уменьшения ошибки выборки использовались строгие критерии отбора пациентов, а оценка воздействующего фактора и исхода была одинакова для всех пациентов.

Результаты

Все женщины, включенные в исследование, были в репродуктивном возрасте (19–49 лет, медиана – 29 лет) и проживали в одинаковых климатогеографических условиях (преимущественно Москва и Московская область). Все пациентки имели женский тип телосложения, правильно развитые вторичные половые признаки. Статистически значимых различий между группами по антропометрическим данным выявлено не было ($p > 0,05$).

Средний возраст начала половой жизни у женщин, принявших участие в исследовании, составил 18,9 года (минимум 14 лет, максимум 35 лет, медиана 18 лет). Статистически значимых различий в возрасте начала половой жизни между группами выявлено не было ($p = 0,948$). Постоянный половой партнер (в течение последнего года) был у 56 (59,6%) пациенток, два и более – 29 (30,8%), 6 (6,4%) женщин половые контакты в течение последнего года исключили и 3 (3,2%) отметили отсутствие половых контактов в анамнезе (virgo). При статистическом анализе данных было выявлено, что число половых партнеров у женщин, включенных в 1-ю группу исследования, достоверно больше (минимум 0, максимум 14, медиана 4, интерквартильный интервал 2–6) по сравнению с женщинами 2-й группы (минимум 1, максимум 10, медиана 3, интерквартильный интервал 2–4); тест Манна–Уитни; $p = 0,031$. Полученные результаты совпадают с данными других авторов [28] и указывают, что наличие большого числа половых партнеров в анамнезе может способствовать рецидивирующему течению ВВК. Однако надо отметить, что 3 (3,2%) пациентки с рецидивирующим течением заболевания половые контакты в анамнезе отрицали (virgo).

При сборе анамнеза также было установлено, что 52,5% пациенток с РВБК, а также 31,4% пациенток с острым ВВК отметили оро- и аногенитальные контакты (см. рисунок). Было установлено, что женщины с РВБК достоверно чаще отмечали оро- и аногенитальные контакты в анамнезе по сравнению с пациентками с острым ВВК ($p = 0,036$).

При оценке данных соматического и гинекологического здоровья статистически достоверных различий между группами исследования выявлено не было ($p > 0,05$).

Для оценки количественного состава вагинальной микрофлоры исследуемых женщин были проанализированы данные исследования «Фемофлор 16». При оценке данных выявлено, что дисбиоз влагалища (доля лактобактерий меньше 80% от общей бактериальной массы и повышенное количество условно-патогенных микроорганизмов) досто-



верно чаще встречался у женщин с рецидивирующим течением ВБК по сравнению с пациентками с острым ВБК ($p=0,027$). У женщин с РВБК повышение количества облигатно-анаэробных микроорганизмов наблюдалось в 40,7% случаев, а факультативно-анаэробных микроорганизмов – в 8,5% случаев. У 32,2% пациенток с РВБК было выявлено сочетание аэробного и анаэробного дисбиоза. Сочетание острого ВБК с повышенным количеством облигатно-анаэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов было выявлено в 31,4 и 2,9% случаев соответственно, а смешанный дисбиоз был установлен у 17,1% женщин с острым ВБК. Таким образом, наши данные показали, что при развитии процесса на фоне вагинального дисбиоза ВБК достоверно чаще имеет рецидивирующий характер, чем при развитии на фоне сохраненной нормофлоры ($p=0,027$).

В результате генотипирования обследуемых женщин для выявления генетических особенностей, ассоциированных с развитием РВБК, были получены определенные результаты (табл. 1).

При анализе данных, полученных в результате исследования, была выявлена ассоциация полиморфизмов генов IL4, IL1B и CCL2 с рецидивирующим течением ВБК.

Полиморфизм гена IL4. В результате исследования трех полиморфных локусов гена IL4: -33 C>T, -590 C>T и -1098 T>G установлено, что в 1-й группе достоверно чаще встречались аллельный вариант С локуса IL4: -33 C>T и аллельный вариант С локуса IL4: -590 C>T по сравнению со 1-й группой ($p=0,0028$), а в результате проведенного анализа сцепления указанных маркеров установлено полное неравновесное сцепление представленных локусов (-33 C>T и -590 C>T); $D'=1,0$ (0,98–1,0); $LOD=153,9$. Учитывая особенности наследования данных локусов, с практической точки зрения достаточно генотипирования по одному из локусов, маркирующих гаплотип СС или ТТ. При дальнейшем анализе мы использовали маркер IL4: -33 C>T. У женщины с РВБК (1-я группа) достоверно чаще отмечалось гомозиготное носительство гаплотипа СС по сравнению с женщинами, не страдающими от частых рецидивов ВБК (2-я группа) [ОШ 3,98, доверительный интервал – ДИ 1,55–10,21; $p=0,0026$].

Согласно аутосомно-рецессивной модели наследования наличие гаплотипа СС повышает риск рецидивирующего течения ВБК [ОШ 6,33, ДИ 2,04–19,68; $p=0,00087$ (χ^2 с поправкой Бонферрони)].

Полиморфизм гена IL1B. Анализ данных нашего исследования также выявил ассоциацию аллельных вариантов G локуса -511 A>G и T локуса -31 T>C гена IL1B с РВБК ($p=0,0004$ и $p=0,0008$ соответственно). Для обоих исследованных локусов показано полное неравновесное сцепление [$D'=1,0$ (0,98–1,0), $LOD=193,9$]. С рецидивирующим течением ВБК ассоциирован гаплотип GT. Гомозиготное носительство данного гаплотипа достоверно чаще встре-

Таблица 1. Распределение генотипов полиморфных локусов исследуемых генов в зависимости от особенностей течения ВБК

Полиморфизм	Генотип	1-я группа	2-я группа	Различия распределения аллелей в исследуемых группах, χ^2 с поправкой на правдоподобие (p)
IL4 -33 C>T	C/C	81,3	40,6	0,0028
	C/T	15,6	53,1	
	T/T	3,1	6,3	
IL4 -590 C>T	C/C	81,3	40,6	0,0028
	C/T	15,6	53,1	
	T/T	3,1	6,3	
IL4R 1902 A>G [Gln576Arg]	A/A	66,7	43,7	0,1929
	A/G	24,2	50,0	
	G/G	9,1	6,3	
IL4 -1098 T>G	G/G	0,0	0,0	0,9554
	T/G	18,2	18,8	
	T/T	81,8	81,2	
TLR9 -1486 T>C	C/C	15,2	31,3	0,0807
	T/C	48,4	46,8	
	T/T	36,4	21,9	
CCL2 2493 A>G [-2578 A>G]	A/A	45,4	71,9	0,0262
	A/G	48,5	28,1	
	G/G	6,1	0,0	
IL1A 4845 G>T [Ala114Ser]	G/G	38,7	59,4	0,1949
	G/T	54,8	34,4	
	T/T	6,5	6,2	
IL1B -511(-598) A>G	A/A	6,1	43,8	0,0004
	A/G	39,4	25,0	
	G/G	54,5	31,2	
IL1B -31 T>C	C/C	6,1	43,8	0,0008
	T/C	42,4	24,9	
	T/T	51,5	31,3	
IL1R1 -11970 C>T	C/C	50,0	53,1	0,5745
	C/T	37,5	21,9	
	T/T	12,5	25,0	
TGFB1 29 C>T [Pro10Arg]	C/C	9,0	0,0	0,5101
	C/T	45,5	53,1	
	T/T	45,5	46,9	
IL10 -1082 G>A	A/A	30,3	31,3	0,2696
	G/A	48,5	65,6	
	G/G	21,2	3,1	
IL10 -592 C>A	A/A	15,6	9,4	0,715
	C/A	46,9	53,1	
	C/C	37,5	37,5	
TLR4 896 A>G [Asp299(259)Gly]	A/A	97,0	75,0	0,8006
	A/G	3,0	25,0	
	G/G	0,0	0,0	
TLR2 597 T>C [Asn199Asn]	C/C	27,3	15,6	0,865
	C/T	21,2	21,9	
	T/T	51,5	62,5	

Таблица 2. Результаты рассчитанных коэффициентов независимых переменных и проверка их значимости

Независимые переменные	Коэффициент регрессии b	Стандартная ошибка	Вальд	Df	Значимость (Sig)	Exp (B)
Полиморфизм гена IL1B (-511 A>G)	1,063	0,274	15,083	1	0,000	2,895
Полиморфизм гена IL4 (-33 C>T)	1,112	0,341	10,601	1	0,001	3,039
Полиморфизм гена CCL2 (-2578 A>G)	1,483	0,416	12,729	1	0,000	4,407
<i>Lactobacillus</i> spp.	-0,044	0,016	7,546	1	0,006	0,957

чается у женщин с РВБК ($p=0,00041$). Согласно аутосомно-доминантной модели наследования наличие данного гаплотипа повышает риск рецидивирования ВВК (ОШ 12,06, ДИ 2,46–59,20; $p=0,00041$).

Полиморфизм гена CCL2. Полиморфизм локуса -2578 A>G гена CCL2 также был ассоциирован с РВБК. У женщин с РВБК генотип А/А встречается достоверно реже по сравнению с пациентками, отмечающими частые рецидивы ВВК (ОШ 0,38, ДИ 0,16–0,91; $p=0,0026$). Согласно аутосомно-рецессивной модели наличие генотипа АА имеет протективное значение (ОШ 0,33, ДИ 0,12–0,91; $p=0,031$).

Комплексный анализ факторов риска РВБК

Для выявления независимых предикторов развития рецидивирующего течения ВВК был проведен многофакторный регрессионный анализ, включающий все потенциальные предикторы, и была получена дискриминантная функция, включающая особенности генотипа пациентки и состояние микрофлоры влагалища на момент обращения. При использовании метода бинарной логистической регрессии исходом является переменная, характеризующая рецидивирование ВВК, предикторами – генотип по следующим полиморфным локусам: IL1B (-511 A>G) [rs16944]; IL4 (-33 C>T) [rs2070874]; CCL2 (-2578 A>G) [rs1024611] и доля лактобактерий в составе вагинальной микрофлоры на момент наблюдения. При построении бинарной логистической регрессионной модели использовался метод обратной селекции. Качество приближения регрессионных моделей при каждом последующем шаге оценивали при помощи функции подобия. Мерой правдоподобия служило отрицательное удвоенное значение логарифма этой функции (-2LL). Мера определенности определяет часть дисперсии, которую можно объяснить с помощью логистической регрессии. Часть дисперсии, объяснимой с помощью логистической регрессии, в данном уравнении составляет 42,5% (вычисляется по методу Наделькеркса). Анализ нормированных коэффициентов дискриминантной функции показал, что вклад генетических предикторов в особенности течения кандидоза составил 69%. Примечательно, что клинико-анамнестические данные и абсолютное количество грибов было исключено из модели как несущественное. Результаты рассчитанных коэффициентов в бинарной логистической регрессии и проверки их значимости приведены в табл. 2.

Классифицирующая дискриминантная функция имеет вид:

$$Z=1,063 \times IL1B + 1,112 \times IL4 + 1,483 \times CCL2 - 0,044 \times Lact + 1,326,$$

где

$1,326$ – константа;
 $IL1B$ – количество аллелей G в локусе -511 A>G гена IL1B;
 $IL4$ – количество аллелей C в локусе -33 C>T гена IL4;
 $CCL2$ – количество аллелей G в локусе -2578 A>G гена CCL2;
 $Lact$ – доля лактобацилл (%) в составе вагинальной микрофлоры.

Вероятность развития рецидивирующего течения ВВК (p) определялась по формуле $p=1/(1+e^{-z})$. При значении $p>0,5$ можно предположить развитие рецидивирующего течения ВВК, а при значении $p<0,5$ рецидивирующее течение ВВК маловероятно.

Учитывая, что в модель, полученную при многофакторном анализе, вошли маркеры, продемонстрировавшие статистически значимые ассоциации с РВБК при однофакторном анализе, логично предположить, что в данном случае мы имеем дело скорее с независимым влиянием указанных генов, нежели с ген-генным взаимодействием.

Точность прогнозирования вероятности развития рецидивирующего течения ВВК с использованием приведенных независимых переменных составляет 78%. Был проведен ROC-анализ для валидации полученной модели (см. рисунок). Чувствительность составила 85% (73–93%), специфичность – 66% (48–80%), значение AUC (площадь под кривой) для данной модели составляет 0,841, 95% ДИ 0,775–0,906 ($p=3,5 \times 10^{-13}$).

Получен патент (№2621636).

Для проверки представленной выше модели прогнозирования течения ВВК была посчитана вероятность развития рецидивирующего течения ВВК у женщин, включенных во 2-ю группу исследования (женщины с острым ВВК). Предрасположенность к развитию РВБК ($p>0,5$) была установлена у 12 (34,3%) пациенток. Из них в период наблюдения (6 мес) рецидив ВВК был зарегистрирован у 75,0% (9 пациенток), что достоверно больше по сравнению с пациентками с установленным рецидивом, не имевшими предрасположенности к развитию РВБК (25,0%); $p=0,034$.

Обсуждение

Несмотря на то, что при однофакторном статистическом анализе данных были получены достоверные различия по числу половых партнеров и встречаемости oro- и аногенитальных контактов, данные переменные не вошли в модель, что, по-видимому, свидетельствует о незначительном вкладе этих факторов в предрасположенность к рецидивирующему течению ВВК, а основную роль играют особенности иммунного ответа.

Механизмы врожденного иммунитета для распознавания грибов рода *Candida* включают несколько семейств паттернраспознающих рецепторов (ППР), расположенных на поверхности или внутри клеток врожденного иммунитета (макрофаги и дендритные клетки). Основными распознающими структурами являются TLR и лектиновые рецепторы C-типа (C-type lectin receptors – CLR) – дектины, циркулирующий MBL и др. Именно CLR играют центральную роль в распознавании грибов и активации врожденного иммунитета. Паттернраспознающие рецепторы активируют факторы транскрипции с помощью различных сигнальных путей, что приводит к синтезу про- (фактор некроза опухоли α – TNF- α , IL-12, IFN- γ) и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), обеспечивающих поляризацию T-лимфоцитов, формируя Th1- или Th17-клеточный ответ [29]. Показано, что наличие однонуклеотидных полиморфизмов в генах, кодирующих паттернраспознающие рецепторы (TLR1, TLR3, TLR4, TLR9, Dectin-1, MBL), цитокины (TNF- α , IL-1 β , IL-1 α , IL-10, IL-4) и рецепторы цитокинов, связано с формированием неполноценного иммунного ответа, что способствует развитию грибковой колонизации, рецидивирующему течению ВВК, а также инвазивной инфекции. Показано, что при наличии Tg238X-полиморфизма гена CLEC7A (ген, кодирующий Dectin-1) у пациенток наблюдалось рецидивирующее течение грибковой инфекции (хронический онихомикоз и РВБК), что обусловлено дефицитом Dectin-1 у носителей данного полиморфизма. Дефицит Dectin-1 приводит к отсутствию/снижению распознавания β -глюкана и нарушению иммунного ответа по Th17- и Th1-путям. Это проявляется снижением продукции IL-17, IL-23 и IL-6 и формированием неполноценного противогрибкового иммунного ответа [20]. В другом исследовании было изучено влияние генных полиморфизмов Tg238X (CLEC7A) и S12N (CARD9) на развитие кандидемии. И было установлено, что уровень продукции TNF- α и IL-1 β снижены (in vitro) при наличии у пациентов аллеля 238X гена CLEC7A, а продукция IL-6, IL-8, IFN- γ и

IL-17 была сопоставима с группой контроля, но при исследовании продукции цитокинов *in vivo* было обнаружено достоверное снижение продукции IL-6, IL-8 и IFN- γ у носителей полиморфизма гена CLEC7A. Достоверные различия в продукции цитокинов в зависимости от генотипа CARD9 (*in vivo* и *in vitro*) не выявлялись. Однако, несмотря на наличие сниженной продукции некоторых цитокинов, у носителей Tyr238X полиморфизма гена CLEC7A, ассоциации между наличием полиморфизмов Dectin-1 и развитием кандидемии, по данным данного исследования, не наблюдалось [19].

Несинонимичная замена в гене TLR2 (rs5743704, Pro631His) также повышала восприимчивость РВБК почти в 3 раза. Полагают, что это ассоциировано со снижением выработки IL-17 и IFN- γ [30].

Кроме того, предрасположенность к рецидивированию/персистенции кандидозной инфекции слизистых оболочек была выявлена и у носителей полиморфизмов гена IL12R β 1, которые обуславливают снижение концентрации IL12R β 1 и IFN- γ [31]. A.Puel и соавт. сообщили, что с хроническим кандидозом кожи и слизистых оболочек ассоциированы полиморфизмы генов IL17RA и IL17F. Авторами было показано, что наличие Q284X полиморфизма гена IL17RA и S65L полиморфизм гена IL17F приводит к ингибированию IL-6 и GRO, что, вероятно, обуславливает снижение иммунного ответа и способствует развитию хронического кандидоза кожи и слизистых оболочек [12].

Тем не менее есть работы [37] показывающие, что одионные нуклеотидные полиморфизмы в TLR1, TLR4, CLEC7A и CARD9 не влияют на предрасположенность к РВБК.

Ассоциация РВБК с наличием полиморфизма гена IL-4 была показана в работе O.Vabula и соавт. Авторы выявили, что однонуклеотидная замена в гене IL-4 (IL-4: -589C>T) ассоциирована с РВБК, а аллель T (IL-4: -589T) достоверно чаще встречается у женщин с рецидивирующим течением ВВК. Они также показали, что гомозиготное носительство данного аллеля (IL-4: -589TT) связано с повышенным содержанием IL-4 и снижением концентрации одного из химических участников респираторного взрыва – NO (монооксид азота) и MBL в содержимом влагалища [14]. Известно, что IL-4 является противовоспалительным цитокином, который ингибирует иммунный ответ по Th1-пути и способствует активации Th2-ответа, а наличие аллеля C в позиции -589 C>T ассоциировано с повышением транскрипционной активности гена. Это позволяет предположить, что наличие аллеля C (IL-4: -589xС) способствует развитию иммунного ответа по Th2-пути.

При анализе данных, полученных в результате нашего исследования, были установлены полное неравновесное сцепление локусов IL4 (-33 C>T) и IL4 (-590 C>T), а также ассоциация аллельных вариантов С данных локусов и гаплотипа -33С/-590С с рецидивирующим течением ВВК. Однако взаимосвязь генотипа исследуемых женщин и концентрации IL-4 во влагалище нами не оценивалась.

Ассоциация гаплотипа -1098Т/-589С/-33С гена IL-4 с развитием у пациентов хронического диссеминированного кандидоза и протективное значение гаплотипа -1098С/-589Т/-33Т были выявлены и в результате исследования E.Choi и соавт. [33].

Учитывая эти данные и данные нашего исследования, можно предположить, что у женщин с РВБК имеет место нарушение не только врожденного иммунного ответа (Th1- и Th17-пути), но и гуморального иммунного ответа (Th2-пути), или экспрессия гена IL4, определяющего уровень IL-4, модифицируется другими факторами.

Кроме того, результаты нашего исследования позволили установить ассоциации аллельных вариантов гена IL1 β (IL1 β : -511 A>G и IL1B: -31 T>C) с РВБК. Также было выявлено полное неравновесное сцепление указанных локусов, а гаплотип GT достоверно чаще встречался у женщин с РВБК.

Известно, что IL-1 β является провоспалительным цитокином и важным медиатором воспалительного ответа. Он принимает участие в ряде процессов, одним из которых является дифференцировка наивных Th0-клеток (совместно с

IL-6) в сторону Th17-клеток, которые играют ключевую роль в борьбе с внеклеточными патогенами и грибами в том числе [32]. Стоит отметить, что IL-1 β также способен индуцировать продукцию/синтез NO-синтазы, в результате чего повышается продукция NO [34], который является мощным фактором защиты от патогенных микроорганизмов [35].

Однако по результатам других исследователей ассоциации между полиморфизмом гена IL1 β и развитием инвазивного кандидоза выявило не было [36, 38]. Возможно, роль IL-1 β более важна при формировании локального иммунного ответа, а при инвазивном процессе в формировании противокандидозного иммунного ответа решающую роль играют другие пути активации иммунитета.

Еще одним геном иммунной системы, полиморфизм которого, по данным нашего исследования, ассоциирован с РВБК, был CCL2 [CCL2: 2493 A>G (-2578 A>G)]. CCL2 относится к группе СС-хемокинов (β -хемокинов) и является наиболее мощным фактором хемотаксиса моноцитов в организме млекопитающих. CCL2 осуществляет контроль за трафиком клеток из кровотока к очагу воспаления. Результат активации рецептора CCR2 может быть как провоспалительным (опосредован антигенпрезентирующими Т-клетками), так и противовоспалительным (опосредован регуляторными Т-клетками). Однако, несмотря на значительную роль CCL2 в формировании иммунного ответа, данные о его роли в развитии ВВК/РВБК в доступной нам литературе не встречались.

Несмотря на то, что в нашем исследовании мы не выявили взаимосвязь между полиморфизмами генов TLRs (TLR2, TLR4) с РВБК, D.Rosenthal и соавт. показали, что полиморфизм гена TLR2 (rs5743704, Pro631His) повышает вероятность развития РВБК почти в 3 раза. Авторы пришли к выводу, что данная ассоциация обусловлена снижением продукции IL-17 и IFN- γ в ответ на стимуляцию *C. albicans* мононуклеарных клеток периферической крови, что наблюдалось у носителей Pro631His-полиморфизма гена TLR2 [37]. Однако стоит отметить, что нами были исследованы другие локусы гена TLR2.

По результатам нашего исследования было установлено, что вклад генетических предикторов при развитии РВБК составлял 69%, а наличие гаплотипа -33С/-589С гена IL4 и гаплотипа -511G/-31Т гена IL1 β , а также генотипа -2578GG гена CCL2 способствует развитию РВБК. Кроме того, дисбиотические нарушения вагинальной микрофлоры (количественная представленность *Lactobacillus* spp.) также являются предрасполагающим фактором развития РВБК и, наряду с генетическими факторами, были включены в модель предикции развития РВБК. Однако, учитывая, что дисбиотические нарушения вагинальной микрофлоры могут быть также ассоциированы с генетически детерминированными особенностями иммунного ответа, остается открытым вопрос – является ли дисбиоз самостоятельным фактором риска рецидивирования ВВК или в основе предрасположенности к нарушению микрофлоры влагалища лежат те же механизмы, что и при РВБК?

Литература/References

1. Sberard J, Donders G, White D. European (IUSTI/WHO) Guideline on the Management of Vaginal Discharge. European STI Guidelines Editorial Board. 2011; p. 1–23.
2. Sobel JD, Faro S, Force RW et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. Am J Obstet Gynecol 1998; 178 (2): 203–11.
3. Foxman B, Muraglia R, Dietz J-P et al. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: results from an internet panel survey. J Lower Genital Tract Dis 2013; 17 (3): 340–5.
4. Sobel JD. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. Am J Obstet Gynecol 1998; 178 (2): 203–11.
5. Sobel JD. Recurrent vulvovaginal candidiasis. Am J Obstet Gynecol 2016; 214 (1): 15–21.
6. Guzel AB, Ilkit M, Burgut R et al. An Evaluation of Risk Factors in Pregnant Women with Candida Vaginitis and the Diagnostic Value of Simultaneous Vaginal and Rectal Sampling. Mycopathologia 2011; 172 (1): 25–36.

7. Mårdb P-A, Rodrigues AG, Genç M et al. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis – a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. *Int J STD AIDS* 2002; 13 (8): 522–39.
8. Calderon L, Williams R, Martinez M et al. Genetic susceptibility to vaginal candidiasis. *Med Mycol* 2003; 41 (2): 143–7.
9. Jaeger M, Plantinga TS, Joosten LAB et al. Genetic basis for recurrent vulvo-vaginal candidiasis. *Cur Infect Dis Rep* 2013; 15 (2): 136–42.
10. Smeeckens SP. Genetic susceptibility to *Candida* infections. *EMBO Mol Med* 2013; 5 (6): 805–13.
11. Rosentul D. Polymorphism in innate immunity genes and susceptibility to recurrent vulvovaginal candidiasis. *J Mycol Med* 2009; 19 (3): 191–6.
12. Puel A. Inborn errors of human IL-17 immunity underlie chronic mucocutaneous candidiasis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; 12 (6): 616–22.
13. Babula O, Lazdane G, Kroica J et al. Relation between recurrent vulvovaginal candidiasis, vaginal concentrations of mannose-binding lectin, and a mannose-binding lectin gene polymorphism in Latvian women. *Clin Infect Dis* 2003; 37 (5): 733–7.
14. Babula O, Lazdane G, Kroica J et al. Frequency of interleukin-4 (IL-4)-589 gene polymorphism and vaginal concentrations of IL-4, nitric oxide, and mannose-binding lectin in women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Infect Dis* 2005; 40 (9): 1258–62.
15. De Luca A, Carvalho A, Cunha C et al. IL-22 and IDO1 Affect Immunity and Tolerance to Murine and Human Vaginal Candidiasis. *PLoS Pathogens* 2013; 9 (7).
16. Donders GGG, Babula O, Bellen G et al. Mannose-binding lectin gene polymorphism and resistance to therapy in women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *BJOG* 2008; 115 (10): 1225–31.
17. Giraldo PC, Babula O, Goncalves AK et al. Mannose-binding lectin gene polymorphism, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 1123–8.
18. Liu F, Liao Q, Liu Z. Mannose-binding lectin and vulvovaginal candidiasis. *Int J Gynaecol Obstet* 2006; 92 (1): 43–7.
19. Rosentul DC, Plantinga TS, Oosting M et al. Genetic variation in the dectin-1/CARD9 recognition pathway and susceptibility to candidemia. *J Infect Dis* 2011; 204 (7): 1138–45.
20. Ferwerda B, Ferwerda G, Plantinga TS et al. Human dectin-1 deficiency and mucocutaneous fungal infections. *N Engl J Med* 2009; 361 (18): 1760–7.
21. Glocker E-O, Hennigs A, Nabavi M et al. A Homozygous CARD9 Mutation in a Family with Susceptibility to Fungal Infections. *N Engl J Med* 2009; 361 (18): 1727–35.
22. Nabum A. The biological significance of TLR3 variant, L412F, in conferring susceptibility to cutaneous candidiasis, CMV and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2012; 11 (5): 341–7.
23. Nabum A, Bates A, Sharfe N, Roifman CM. Association of the lymphoid protein tyrosine phosphatase, R620W variant, with chronic mucocutaneous candidiasis. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122 (6): 1220–2.
24. Brouwer N, Dolman KM, van Houdt M et al. Mannose-binding lectin (MBL) facilitates opsonophagocytosis of yeasts but not of bacteria despite MBL binding. *J Immunol* 2008; 180 (6): 4124–32.
25. Neth O, Jack DL, Dodds AW et al. Mannose-binding lectin binds to a range of clinically relevant microorganisms and promotes complement deposition. *Infect Immun* 2000; 68 (2): 688–93.
26. Sharfe N, Shabar M, Roifman CM. An interleukin-2 receptor gamma chain mutation with normal thymus morphology. *J Clin Invest* 1997; 100 (12): 3036–43.
27. Practice Bulletin Clinical Management Guidelines for Obstetrician – Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2009; 106: 192–202.
28. Mendling W. Guideline: Vulvovaginal candidosis (AWMF 015/072), S2k (excluding chronic mucocutaneous candidosis). *Mycoses* 2015; 58 (S1): 1–15.
29. Plantinga TS, Johnson MD, Scott WK et al. Human genetic susceptibility to *Candida* infections. *Med Mycol* 2012; 1–10.
30. Wójciszewicz A, Tissot F, Lamoib F et al. Polymorphisms in tumor necrosis factor- α increase susceptibility to intra-abdominal *Candida* infection in high-risk surgical ICU patients. *Crit Care Med* 2014; 42 (4): e304–8.
31. Ouederni M, Sanal O, Ikincioqullari A et al. Clinical features of candidiasis in patients with inherited interleukin 12 receptor β 1 deficiency. *Clin Infect Dis* 2014; 58 (2): 204–13.
32. Naglik JR. *Candida* Immunity. *New J Sci* 2014; 2014 (Article ID 390241).
33. Choi EH, Foster CB, Taylor JG et al. Association between chronic disseminated candidiasis in adult acute leukemia and common IL4 promoter haplotypes. *J Infect Dis* 2003; 187 (7): 1153–6.
34. Corbett JA, Kwon G, Turk J, McDaniel ML. IL-1 β induces the coexpression of both nitric oxide synthase and cyclooxygenase by islets of langerhans: Activation of cyclooxygenase by nitric oxide. *Biochemistry* 1993; 32 (50): 13767–70.
35. Fang FC. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nature reviews. Microbiology* 2004; 2 (10): 820–32.
36. Johnson MD, Plantinga TS, Van De Vosse E et al. Cytokine gene polymorphisms and the outcome of invasive candidiasis: A prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2012; 54 (4): 502–10.
37. Rosentul DC, Delsing CE, Jaeger M et al. Gene polymorphisms in pattern recognition receptors and susceptibility to idiopathic recurrent vulvovaginal candidiasis. *Front Microbiol* 2014; 5: 483.
38. Sun R, Tian W, Xing X. Association of cytokine gene polymorphisms with susceptibility to invasive candidiasis. *Genet Mol Res* 2015; 14 (142): 6859–64.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Погосян Шаке Манвеловна – аспирант научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НМИЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: shaqroxo@mail.ru

Межевитинова Елена Анатольевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НМИЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова»

Донников Андрей Евгеньевич – канд. мед. наук, зав. лаб. молекулярно-генетических методов ФГБУ «НМИЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова»

Прилепская Вера Николаевна – д-р мед. наук, проф., зам. дир. по научной работе, рук. научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НМИЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова»

Бурменская Ольга Владимировна – д-р биол. наук, науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических методов ФГБУ «НМИЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова»

Непша Оксана Сергеевна – канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических методов ФГБУ «НМИЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова»

Быстрицкий Андрей Александрович – канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических методов ФГБУ «НМИЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова»