

Профиль экспрессии генов иммунного ответа во влагалище женщин при комплексной терапии рецидивирующего вульвовагинального кандидоза

Ш.М.Погосян[✉], Е.А.Межевитинова, П.Р.Абакарова, А.Е.Донников, В.В.Муравьева
ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России.
117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

Иммунная система имеет ключевую роль в развитии кандидозной инфекции. Известно, что клетки врожденного иммунитета (нейтрофилы и макрофаги) являются первой линией защиты организма при кандидозе и осуществляют фагоцитоз грибковых клеток. Протективную роль играет также адаптивный иммунитет путем активации Th-клеток, а баланс Th1- и Th2-клеток имеет важное значение для регуляции иммунного ответа. Распознавание грибковых клеток рецепторами распознавания паттерна приводит к синтезу провоспалительных цитокинов, активации иммунной системы и элиминации грибковых клеток. Тем не менее было показано, что *Candida albicans* ингибирует иммунный ответ, что приводит к развитию грибковой инфекции.

Цель исследования – изучение состояния вагинальной микрофлоры и особенностей локального иммунного ответа у женщин с рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом для усовершенствования тактики их ведения.

Результаты. Наши данные показали, что наличие дисбиотических нарушений вагинальной микрофлоры является фактором риска развития рецидивирующего вульвовагинального кандидоза, а активность локальной иммунной системы более выражена при развитии рецидивирующего вульвовагинального кандидоза на фоне вагинального дисбиоза.

Ключевые слова: вульвовагинальный кандидоз, рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз, терапия рецидивирующего вульвовагинального кандидоза, иммунный ответ при вульвовагинальном кандидозе, профиль экспрессии генов при вульвовагинальном кандидозе.

[✉]shaqpxos@mail.ru

Для цитирования: Погосян Ш.М., Межевитинова Е.А., Абакарова П.Р. и др. Профиль экспрессии генов иммунного ответа во влагалище женщин при комплексной терапии рецидивирующего вульвовагинального кандидоза. Гинекология. 2017; 19 (3): 49–54. DOI: 10.26442/2079-5696_19.3.49-54

The profile of the expression of the immune response genes in the vagina of women in the complex therapy of recurrent vulvovaginal candidiasis

Sh.M.Pogosyan[✉], E.A.Mezhevitinova, P.R.Abakarova, A.E.Donnikov, V.V.Muravyova
V.I.Kulakov 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

Host immunity against *Candida albicans* is crucial in controlling *C. albicans* infection. The innate immunity is believed to be the first line of host defense, such as the direct killing of yeasts through phagocytosis by neutrophils and macrophages. In addition to innate immune cells, an adjunctive protective effect is played by cellular adaptive immunity represented by Th lymphocytes. The balance of various Th cell subpopulations plays a crucial role in regulating the prognosis of *C. albicans* infection. Yeasts cell recognition by pattern recognition receptors leads to proinflammatory cytokines synthesis, cause immune system activation and yeast cells killing. However it was demonstrated that *C. albicans* inhibits immune response which cause infection.

Aim – studying vaginal microbiota and the local immune response in women with recurrent vulvovaginal candidiasis for improving the tactics of their management.

Results. Our data demonstrates that vaginal disbiosis are risk factor for RVVC and leads to more active innate immune system response.

Key words: vulvovaginal candidiasis, recurrent vulvovaginal candidiasis, treatment of vulvovaginal candidiasis, immune response to vulvovaginal candidiasis, genes expression profile during vulvovaginal candidiasis.

[✉]shaqpxos@mail.ru

For citation: Pogosyan Sh.M., Mezhevitinova E.A., Abakarova P.R. et al. The profile of the expression of the immune response genes in the vagina of women in the complex therapy of recurrent vulvovaginal candidiasis. Gynecology. 2017; 19 (3): 49–54. DOI: 10.26442/2079-5696_19.3.49-54

Кандидозный вульвовагинит (вульвовагинальный кандидоз – ВВК) является грибковым поражением вульвы и слизистой оболочки влагалища. ВВК не относится к инфекциям, передаваемым половым путем, и считается самостоятельной нозологической единицей (код в Международной классификации болезней 10-го пересмотра B37.3). По данным литературы, в роли возбудителя ВВК чаще выступает *Candida albicans* (50–80%). Тем не менее заболевание может быть обусловлено и другими представителями дрожжевых грибов (*Candida glabrata*, *C. krusei*, *C. pseudotropicalis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *Saccharomyces cerevisiae* и т.д.) [1–4].

У большинства пациенток эпизоды ВВК носят спорадический характер, однако у 8–10% женщин заболевание приобретает рецидивирующее течение (4 и более эпизода обострения в течение 12 мес), что отрицательно влияет на качество жизни пациенток и является большой медико-социальной проблемой [5, 6].

При попадании во влагалище дрожжевые грибы адгезируют на поверхности эпителиальных клеток и распознаются рецепторами распознавания паттерна (pathogen recognition receptor): толл-подобным рецептором (toll-like

receptors), лектиновым рецептором С-типа (C-type lectin receptor), нод-подобным рецептором (nucleotide-binding domain leucine-rich receptors) [7, 8]. Активация этих рецепторов впоследствии контакта с грибковыми антигенами сопровождается синтезом ряда провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины (ИЛ)-1 β , ИЛ-18, ИЛ-6, фактор некроза опухоли – ФНО, интерферон- γ и другие, что способствует развитию иммунного ответа по Th1- и Th17-путям, обеспечивает миграцию иммунных клеток к очагу воспаления и активацию фагоцитоза, это является весьма важным фактором в борьбе с микроорганизмами. M.Neta и соавт. показано, что активация TLR4 стимулирует Th1-ответ путем продукции ИЛ-12, интерферона- γ , ФНО, что поддерживает развитие воспаления и приводит к элиминации патогена, а распознавание грибов рецепторами dectin-1 и dectin-2 активирует развитие Th17-клеток [9], которые синтезируют ИЛ-17А, ИЛ-17Е, ИЛ-22 и ИЛ-26 и играют значительную роль в реализации иммунного ответа при внеклеточных инфекциях [10–16].

Кроме того, для защиты от патогенного воздействия условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) важно сохранение гомеостаза вагинальной экосистемы. поддержа-

ние этого баланса – результат комплексного взаимодействия организма человека и различных микроорганизмов, колонизирующих влагалище. Известно, что лидирующим типом вагинальной микрофлоры являются лактобактерии, которые играют важную роль в защите организма от различных заболеваний (бактериальный вагиноз – БВ, ВВК, инфекции, передаваемые половым путем, ВИЧ-инфекция и т.д. [17]). Лактобактерии и эпителиальные клетки слизистой оболочки влагалища обладают различными свойствами, способствующими поддержанию баланса вагинальной микрофлоры. Установлено, что лактобактерии конкурентно связываются с эпителиальными клетками слизистой оболочки влагалища, что приводит к образованию биологического барьера и препятствует адгезии УППМ и патогенных микроорганизмов, в том числе и грибов [18, 19]. Лактобактерии синтезируют молочную кислоту, H_2O_2 и бактериоцины, которые считаются мощными антимикробными факторами. В вагинальной микрофлоре женщин с ВВК и рецидивирующим ВВК (РВВК) количество лактобактерий в большинстве случаев не снижено, как это наблюдается при БВ. Поэтому некоторые исследователи предположили, что роль лактобацилл в защите от развития ВВК/РВВК невелика. Однако имеются данные, показывающие, что лактобактерии препятствуют чрезмерному росту грибов и развитию ВВК. Выявлено, что некоторые виды лактобацилл способны ингибировать рост *C. albicans* [20], а применение различных видов лактобактерий после лечения ВВК способствует уменьшению числа рецидивов заболевания [21].

Таким образом, поддержание оптимального баланса вагинальной микрофлоры и нормальное функционирование иммунной системы имеют важное значение для предотвращения развития ВВК, и особенно РВВК.

Целью данного исследования было изучение состояния вагинальной микрофлоры и особенностей локального иммунного ответа у женщин с РВВК для усовершенствования тактики их ведения.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе научно-поликлинического отделения ФГБУ «НЦАиП им. акад. В.И.Кулакова» в период с октября 2012 по сентябрь 2015 г.

В исследование были включены 59 женщин с РВВК. Все пациентки тщательно проконсультированы и подписали информированное согласие для участия в исследовании. Женщины, включенные в исследование, 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 проводились количественное определение состава микрофлоры влагалища методом полимеразной цепной реакции – ПЦР («Фемофлор-16», ООО «ДНК-Технология», Россия) и качественное определение возбудителей урогенитальных инфекций, таких как: *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoea* (качественное определение). Выявление перечисленных микроорганизмов стало критерием исключения, и данные пациентки не включались в исследование.

Проводили исследование профиля экспрессии мРНК генов врожденного иммунитета с целью оценки локального воспаления нижних отделов женского репродуктивного тракта методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени с помощью набора реагентов «ИмуноКвантэкс С/У» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Дополнительно оценивался уровень экспрессии генов ИЛ-8, ИЛ-6, CD69, CD45, ИЛ-12A, TGF- β , GUSB, TBP и HPRT1. Взятие материала для определения уровня экспрессии мРНК некоторых генов иммунной системы осуществлялось со стенок влагалища при помощи стерильного урогенитального зонда в пробирки со специальной транспортной средой (лизирующий раствор набора «Проба НК») для предотвращения деградации РНК.

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

ВВК диагностировался при наличии клинической картины вульвовагинита (патологические выделения из половых путей, чувство зуда и/или жжения в области вульвы и влагалища, гиперемия вульвы/слизистой влагалища и т.д.) и выявления грибковой инфекции по данным микробиологического и/или ПЦР-исследования. ВВК считался рецидивирующим при указании на 4 и более рецидивов вульвовагинального кандидозного в течение одного года [22].

Женщины, включенные в исследование, были подразделены на 2 группы в зависимости от наличия или отсутствия вагинального дисбиоза: в 1-ю вошли женщины с РВВК на фоне сохраненной нормофлоры (количество лактобацилл более 80% от общего количества микрофлоры), а 2-ю составили пациентки с РВВК на фоне вагинального дисбиоза (количество лактобацилл менее 80% от общего количества микрофлоры).

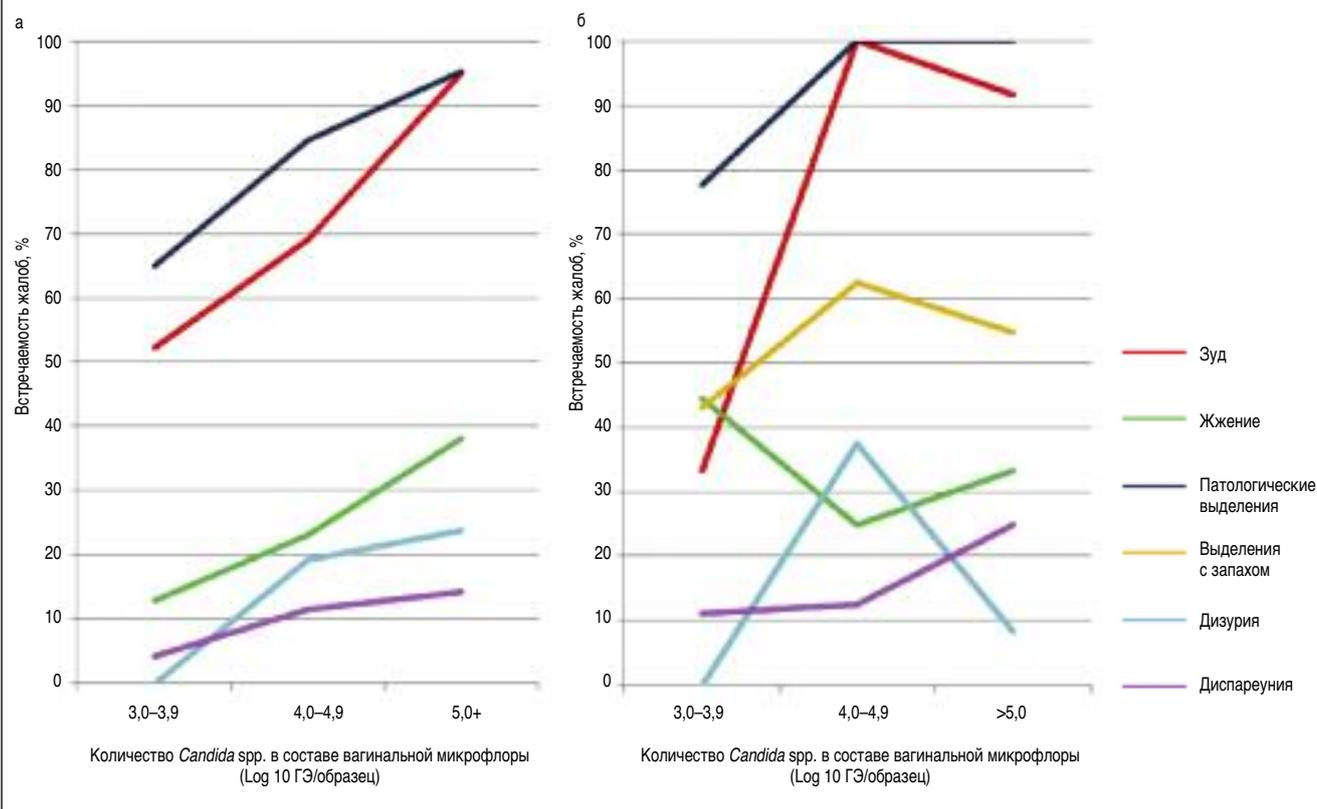
Всем пациенткам назначалось лечение противогрибковым препаратом широкого спектра действия, содержащим фентиконазол нитрат 600 мг (Ломексин) вагинально, трехкратно с интервалом 3 дня. Женщины, у которых РВВК развивался на фоне вагинального дисбиоза (2-я группа) были подразделены на 2 подгруппы – 2а и 2б. Пациентки 2б подгруппы получали только противогрибковое лечение, а пациентки 2а подгруппы помимо противогрибковой терапии получали антибактериальную, противовоспалительную терапию препаратом Тержинам, действие которого обусловлено свойствами входящих в его состав компонентов. Тернидазол (200 мг), производное имидазола, оказывает трихомонадоцидный эффект, а также действует на строгие и факультативные анаэробы, в частности *Gardnerella*. Неомидина сульфат (100 мг) относится к аминогликозидам широкого спектра действия, эффективен по отношению к грамотрицательной микрофлоре и некоторым грамположительным коккам. Нистатин (100 000 МЕ) является полиеновым противогрибковым препаратом и используется для лечения вульвовагинитов, вызванных грибами рода *Candida*. В состав Тержинама также входит преднизолон (3 мг) – глюкокортикоид, обладающий выраженным противовоспалительным, противоэксудативным и противоаллергическим действием. Преднизолон нормализует микроциркуляцию в слизистых оболочках, способствуя притоку компонентов противовоспалительной защиты и оказывая регулирующее действие на факторы местного иммунитета и цитокины. Тержинам назначали по одной вагинальной таблетке в день в течение 10 дней. Наблюдение за пациентками осуществлялось в течение 6 мес после окончания терапии. В период наблюдения оценивались частота возникновения рецидивов и эффективность назначенной терапии на основании клинических признаков ВВК, количественной оценки вагинальной микрофлоры и экспрессионного уровня мРНК генов иммунного ответа.

Клиническая характеристика обследуемых женщин

Подробный анализ анамнестических данных исследуемых женщин показал, что все пациентки, включенные в исследование, проживали в одинаковых климатогеографических условиях (преимущественно в городе Москве и Московской области), имели среднее или высшее образование 21,2 и 78,8% соответственно. Все исследуемые были в репродуктивном возрасте. Средний возраст пациенток составил 30,2±5,8 года. Статистически значимых различий между группами выявлено не было ($p=0,883$).

Все пациентки имели женский тип телосложения и правильно развитые вторичные половые признаки. По антро-

Встречаемость различных симптомов у женщин с РВБК: а – на фоне сохраненного нормоценоза; б – на фоне дисбиоза.



пометрическим данным группы исследования достоверно не различались ($p > 0,05$).

Постоянный половой партнер (в течение последнего года) был у 34 (57,6%) пациенток, 2 и более – у 18 (30,5%); 4 (6,8%) женщины в течение последнего года половые контакты исключали, 3 (5,1%) пациентки не имели половых контактов в анамнезе (virgo). При статистическом анализе данных было выявлено, что число половых партнеров у женщин, включенных во 2-ю группу исследования (РВБК/дисбиоз), достоверно выше – min – 0, max – 14, медиана – 4, интерквартильный интервал – 2–6 по сравнению с женщинами из 1-й группы (РВБК/нормоценоз) – min – 1, max – 10, медиана – 3, интерквартильный интервал – 2–4 (тест Манна–Уитни; $p = 0,042$).

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

В результате анализа предъявляемых пациентками жалоб было установлено, что наиболее частым симптомом у исследуемых женщин было наличие патологических выделений из половых путей, что отметили 96,8% пациенток. Зуд в области вульвы и влагалища беспокоил 81,9% пациенток. Диспареунию и дизурию отмечали 14,9 и 15,9% женщин соответственно.

При оценке количественного состава вагинальной микрофлоры было установлено, что у обследуемых женщин чаще наблюдалось повышенное количество микроаэрофильных и облигатно-анаэробных, чем факультативно-анаэробных микроорганизмов (в 40,7 и 8,5% случаев соответственно), а у 32,2% пациенток было выявлено повышение количества как аэробных, так и анаэробных микроорганизмов. Также было установлено, что у женщин 2-й группы количественная представленность отдельных групп УПМ: факультативно-анаэробных (в частности, *Enterobacteriaceae* spp.), микроаэрофильных/облигатно-анаэробных микроорганизмов (*Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas* spp., *Eubacteriaceae* spp., *Megasphaera* spp., *Veillonella* spp., *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp., *Corynebacterium* spp. и *Peptostreptococcus* spp.) – была достоверно выше по сравнению с

женщинами 1-й группы ($p = 0,027$), что обусловлено критерием формирования групп. Статистический анализ показал, что во 2-й группе женщины достоверно чаще отмечали выделения с запахом (23,7%) по сравнению с 1-й группой исследования (2,9%; $p = 0,013$), что можно объяснить наличием вагинального дисбиоза у участниц 2-й группы.

Анализ зависимости выраженности различных симптомов от количественной представленности грибов и лактобацилл в составе вагинальной микрофлоры показал, что при РВБК на фоне сохраненной лактофлоры частота встречаемости таких симптомов, как зуд и/или жжение в области вульвы и влагалища, патологические выделения из половых путей, дизурия и диспареуния, увеличивалась с ростом количества дрожжевых грибов. Однако при наличии дисбиоза влагалища такая зависимость не наблюдалась (см. рисунок).

Изучение экспрессионного уровня мРНК генов иммунной системы (ИЛ-8, ИЛ-6, ИЛ-1 β , TLR4, ИЛ-10, CD69, CD45, ФНО- α , ИЛ-18, GATA3, CD68, ИЛ-12A, TGF- β) позволило нам оценить особенности локального иммунного ответа при РВБК и влияние дисбиотических нарушений влагалища на развитие локальной иммунной реакции при РВБК.

На основании анализа полученных результатов установлено, что у женщин из 2-й группы экспрессия генов ИЛ-8, ИЛ-6, TLR4 и CD45 достоверно выше, а экспрессия генов ИЛ-18, ИЛ-12, CD68 и GATA3 достоверно ниже по сравнению с пациентками 1-й группы (табл. 1).

У пациенток 2-й группы также была повышена экспрессия генов ИЛ-1 β , ИЛ-10 и CD69, однако различия не достигли статистической достоверности.

Вычисление индекса воспаления (ИВ) в рамках оценки локального иммунного ответа показало, что при развитии РВБК на фоне дисбиоза (2-я группа) значение ИВ $> 60\%$ (соответствующее наличию локальной воспалительной реакции) [23, 24] встречалось у 73,9% женщин, что достоверно выше, чем при РВБК на фоне сохраненной нормофлоры (1-я группа), где таких женщин было всего 38,7% ($p = 0,01$).

Представленные данные позволили нам предположить, что локальный иммунный ответ более интенсивно реаги-

Ген	1-я группа (n=34)	2-я группа (n=25)	Тест Манна-Уитни, p
ИЛ-8	26,6 (15,82–102,77)	238,9 (111,4–401,71)	0,003
ИЛ-6	0,002 (0,0–0,008)	0,008 (0,001–0,016)	0,016
ИЛ-1 β	62,5 (27,2–166,9)	200,9 (34,69–284,05)	0,093
TLR4	0,19 (0,05–0,57)	0,38 (0,22–0,85)	0,041
ИЛ-10	0,01 (0,004–0,043)	0,03 (0,01–0,07)	0,064
CD69	0,06 (0,02–0,12)	0,09 (0,03–0,5)	0,057
CD45	0,38 (0,19–1,07)	1,04 (0,49–2,17)	0,009
ФНО	0,72 (0,32–1,38)	0,74 (0,3–1,26)	0,739
ИЛ-18	23,97 (6,88–33,13)	5,34 (1,98–25,69)	0,012
GATA3	4,59 (1,85–11,99)	1,11 (0,52–6,88)	0,017
CD68	13,93 (7,73–20,16)	5,88 (5,34–15,46)	0,043
ИЛ-12A	0,14 (0,08–0,27)	0,07 (0,02–0,35)	0,046
TGF- β	5,79 (2,19–4,85)	4,98 (1,85–14,93)	0,889

Ген	2а подгруппа (n=13)	2б подгруппа (n=12)	Тест Манна-Уитни, p
ИЛ-8	96,65 (69,12–258,36)	213,9 (123,25–416,51)	0,004
ИЛ-6	0,003 (0,001–0,02)	0,007 (0,001–0,017)	0,021
ИЛ-1 β	146,3 (39,91–184,11)	193,9 (42,69–296,05)	0,099
TLR4	0,091 (0,12–0,95)	0,283 (0,21–0,99)	0,046
ИЛ-10	0,03 (0,01–0,06)	0,061 (0,02–0,09)	0,072
CD69	0,09 (0,03–0,43)	0,143 (0,06–0,49)	0,029
CD45	0,44 (0,49–2,17)	1,29 (0,49–2,17)	0,011
ФНО	0,58 (0,41–1,28)	0,77 (0,39–1,42)	0,659
ИЛ-18	19,35 (2,08–26,69)	4,34 (1,98–20,53)	0,022
GATA3	6,11 (0,92–6,98)	1,23 (0,52–4,88)	0,033
CD68	11,88 (6,34–21,46)	6,11 (5,12–16,06)	0,041
ИЛ-12A	0,16 (0,02–0,45)	0,06 (0,01–0,27)	0,038
TGF- β	4,12 (1,85–14,36)	5,81 (1,19–19,93)	0,911

рует на чрезмерный рост УПМ, чем на грибковую инфекцию, что может быть обусловлено способностью грибов подавлять локальную иммунную защиту или другими факторами, ведущими к формированию неполноценного иммунного ответа при ВВК.

После проведения терапии 94,1% пациенток 1-й группы отмечали отсутствие клинических признаков ВВК, у 2 (5,9%) женщин лечение было малоэффективным. При проведении микробиологического исследования с определением чувствительности к антимикотикам у данных пациенток были выявлены резистентные к большинству противогрибковых препаратов штаммы *C. krusei* и *C. glabrata*. Им была назначена терапия с учетом чувствительности к антимикотикам.

После проведенного лечения отсутствие жалоб было установлено у 84,6% пациенток 1а подгруппы, что достоверно выше ($p=0,042$) по сравнению со 2б подгруппой, где отсутствие жалоб было зафиксировано у 33,3% пациенток. У 15,4% участниц 2а подгруппы и 66,7% 2б подгруппы наблюдалось улучшение состояния, однако эти женщины отмечали сохранение дискомфорта в области вульвы и влагалища. В 2б подгруппе 4 (33,3%) женщин помимо дискомфорта беспокоили выделения с запахом.

Анализ эффективности терапии во 2-й группе показал, что после проведенного лечения вагинальный дисбиоз достоверно чаще ($p=0,0012$) выявлялся у женщин, входящих в 2б подгруппу (9 пациенток) и получавших только противогрибковую терапию, чем в 2а подгруппу (3 пациентки) – 75,0 и 23,1% соответственно.

Стоит отметить, что 2 женщины (1 пациентка из 2а подгруппы и 1 – 2б подгруппы) при наличии вагинального дисбиоза жалоб не отмечали.

При сравнении экспрессионного уровня мРНК генов 2а и 2б подгрупп было установлено, что экспрессия генов ИЛ-8, ИЛ-6, TLR4, CD69, а также CD45 была достоверно

ниже, а экспрессия ИЛ-18, ИЛ-12A, CD68 и GATA3 – достоверно выше в 2а подгруппе (пациентки, получавшие комплексную терапию – Ломексин + Тержинан); табл. 2.

Определение ИВ также показало, что провоспалительный профиль достоверно чаще встречается в 2б подгруппе ($p=0,024$).

Эти данные показали, что у женщин, которые помимо противогрибковой терапии получали терапию препаратом Тержинан, достоверно реже ($p=0,0012$) выявлялся вагинальный дисбиоз, а экспрессионный уровень провоспалительных генов иммунной системы и ИВ был достоверно ниже по сравнению с пациентками, применявшими только противогрибковую терапию.

В период наблюдения рецидив ВВК был установлен у 47,1% пациенток 1-й группы и 56,0% – 2-й. Рецидивы ВВК наблюдались у 3 (25%) женщин 2а подгруппы, получивших терапию препаратом Тержинан для коррекции вагинальной микрофлоры, что было достоверно меньше ($p=0,039$), чем у женщин 2б подгруппы, – 9 (75%), получивших только противогрибковую терапию.

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что наличие дисбиотических нарушений вагинальной микрофлоры является фактором риска и способствует развитию рецидивирующего течения ВВК, а активность локальной иммунной системы более выражена при развитии РВБК на фоне вагинального дисбиоза. Применение противогрибковой терапии и комплексного препарата широкого спектра действия Тержинан способствовало снижению экспрессионного уровня мРНК генов цитокинов и достоверному снижению рецидивов ВВК у исследуемых женщин. Эти данные позволили нам предположить, что для получения лучшего эффекта и уменьшения рецидивов при сочетании РВБК и вагинального дисбиоза важное значение имеет назначение комплексной терапии, направленной не только на грибковую, но и бактериальную флору.

Обсуждения

Известно, что в сохранении гомеостаза вагинальной микробиоты наряду с иммунной системой большую роль играют лактобациллы, которые колонизируют влагалище и в норме являются доминирующим микроорганизмом в составе вагинальной микрофлоры. В результате своей жизнедеятельности лактобактерии вырабатывают различные активные вещества (молочную кислоту, бактериоцины, перекись водорода), которые создают неблагоприятные условия для развития УПМ и патогенных микроорганизмов [25]. Также они выделяют во внеклеточную среду экзополисахариды, способствующие их адгезии на слизистой оболочке и обеспечивающие стабильность мукозального слоя и резистентность к УПМ [26]. Принято считать, что снижение количества лактобацилл и повышение количества УПМ главным образом ассоциированы с БВ, но не с ВВК [27, 28]. Тем не менее результаты нашего исследования показали, что у 42,4% пациенток РВВК протекал на фоне вагинального дисбиоза. Более того, нами было показано, что при наличии дисбиотических нарушений вагинальной микрофлоры рецидивы ВВК возникают достоверно чаще, чем при сохраненной нормофлоре. Однако остается дискуссионным вопрос: нарушение вагинальной микрофлоры приводит к рецидивированию ВВК или рецидивирующее течение ВВК обуславливает развитие дисбиоза? Наличие повышенного количества УПМ на фоне умеренно сниженного количества лактобацилл у женщин с ВВК было показано и в исследовании M.Liu и соавт. Основываясь на данных своего анализа, авторы сделали вывод, что при развитии ВВК также могут наблюдаться нарушения вагинальной микрофлоры, но они менее выражены, чем при БВ. Однако в данном исследовании не уточняется характер течения ВВК (острый или рецидивирующий) [29]. О протективной роли нормофлоры можно судить и по результатам исследования S.Ehrström и соавт., где было показано, что применение лактобактерий после противогрибковой терапии снижает частоту рецидивов ВВК [21].

Нельзя также исключить общие генетически обусловленные особенности иммунной системы, снижающие резистентность к УПМ. Важным фактором сохранения баланса вагинальной микрофлоры и защиты организма от развития ВВК является локальный иммунный ответ. Споры грибов, попадая во влагалище, адгезируются на поверхности эпителиальных клеток и распознаются паттернраспознающими рецепторами. Это приводит к запуску внутриклеточных путей передачи сигналов активации и индукции транскрипции генов, участвующих в формировании иммунного ответа. Имеются многочисленные исследования, показывающие, что грибковая инфекция

сопровождается усилением синтеза различных провоспалительных цитокинов и активных пептидов, а иммунный ответ формируется преимущественно по Th1- и Th17-путям. Индукция синтеза провоспалительных цитокинов и стимуляция Th1-клеток при кандидозной инфекции описаны во многих работах, одной из которых является исследование M.Neta и соавт. Они показали, что активация TLR4 грибковыми антигенами сопровождается усилением синтеза ФНО, ИЛ-12, интерферона- γ и индукции иммунного ответа по Th1-пути. Кроме того, в работе A.Hise и соавт. продемонстрированы индукция синтеза ИЛ-1 β и активация иммунного ответа по Th17-пути в ответ на внедрения грибов [30], а результаты исследования C.Steele и соавт. показали, что при стимуляции (in vitro) клеток слизистой влагалища и ротовой полости *C. albicans* наблюдается уси-

ление синтеза ФНО- α и ИЛ-1 α [31]. Подобная активация иммунной системы при контакте с грибковыми антигенами призвана обеспечивать ингибирование микроорганизма и защиту организма от грибковой инфекции. Однако также показано, что грибы способны ингибировать иммунную систему разными путями. В исследовании S.-C.Cheng и соавт. показано, что при инкубации мононуклеарных клеток периферической крови нежизнеспособными *C. albicans* синтез цитокинов (ВК-17 и ФНО) усиливается, а инкубация мононуклеарных клеток периферической крови с жизнеспособными и нежизнеспособными *C. albicans* синтез ИЛ-17 и ФНО снижает. На основании полученных результатов авторы сделали вывод, что жизнеспособная *C. albicans* ингибирует иммунную систему и приводит к снижению выработки провоспалительных цитокинов

[32, 33]. Кроме того, показано, что *C. albicans* способна маскировать β -глюкан клеточной стенки, который распознается рецептором dectin-1 посредством молекул маннаны, что препятствует распознаванию грибов этим рецептором и предотвращает их фагоцитоз [34–36].

То, что иммунная система более интенсивно реагирует на чрезмерный рост УПМ, чем на грибковую инфекцию, можно предположить и по данным, полученным в результате нашего исследования. Нами было установлено, что у женщин, у которых РВБК протекал на фоне дисбиоза, уровень экспрессии ИЛ-8, ИЛ-6, TLR4 и CD45 достоверно выше, а экспрессия генов ИЛ-18, ИЛ-12, CD68 и GATA3 достоверно ниже по сравнению с женщинами, у которых РВБК развивался на фоне сохраненной нормофлоры. Кроме того, при определении ИВ было установлено, что провоспалительный профиль экспрессии генов цитокинов достоверно чаще встречался при наличии РВБК на фоне вагинального дисбиоза. То, что более интенсивная активация локальной иммунной системы наблюдается в ответ на рост УПМ, чем на грибы, может свидетельствовать о снижении иммунного ответа при ВБК, это может наблюдаться при ингибировании иммунной системы грибами или при наличии у женщин генетических нарушений, ведущих к снижению иммунного ответа при грибковых инфекциях.

Таким образом, основываясь на данных, полученных в результате нашего исследования, а также на данных доступной нам литературы, можно заключить, что развитие РВБК – многофакторный процесс, в котором определенную роль играют как свойства дрожжевых грибов, так и разные нарушения вагинальной микрофлоры, которые способствуют развитию воспалительного процесса и рецидивированию ВБК. Из этого следует, что для достижения лучшего терапевтического эффекта лечение ВБК, который развивается на фоне нарушения вагинальной микрофлоры, должно быть комплексным, направленным не только на грибковую, но и на бактериальную условно-патогенную микрофлору, что может обеспечить лучший терапевтический эффект и предотвращение рецидивов заболевания. Результаты нашего исследования свидетельствуют, что необходимо углубленное обследование пациенток с РВБК, направленное не только на выявление грибов, но и на оценку состояния бактериальной флоры. Применение противогрибковой терапии в сочетании с комплексным препаратом широкого спектра действия Тержинан у пациенток с дисбиотическими нарушениями микрофлоры влагалища способствовало нормализации вагинальной микрофлоры, снижению экспрессионного уровня мРНК генов локального иммунного ответа и ИВ, а также достоверному снижению рецидивов ВБК у исследуемых женщин.

Литература/References

- De Leon EM, Jacober SJ, Sobel JD, Foxman B. Prevalence and risk factors for vaginal *Candida* colonization in women with type 1 and type 2 diabetes. *BMC Infect Dis* 2002; 2: 1.
- Mending W, Niemann D, Tintelnot K. Vaginal Colonization with *Candida* Species with Special Focus on *Candida dubliniensis*. *A Prospective Study. Geburtshilfe Frauenheilkd*; 67 (10): 1132–7.
- Paulitsch A, Weger W, Ginter-Hanselmayer G et al. A 5-year (2000–2004) epidemiological survey of *Candida* and non-*Candida* yeast species causing vulvovaginal candidiasis in Graz, Austria. *Mycoses* 2006; 49 (6): 471–5.
- Прилепская В.Н., Мирзабалаева А.К., Кира Е.Ф. и др. Диагностика и лечение заболеваний, сопровождающихся патологическими выделениями из половых путей женщины. М., 2013; с. 1–24. / Prilepskaia V.N., Mirzabalaeva A.K., Kira E.F. i dr. Diagnostika i lechenie zabollevanii, soprovozhdaemyskh patologicheskimi vydeleniyami iz polovyykh putey zhenshchiny. M., 2013; s. 1–24. [in Russian]
- Sobel JD, Faro S, Force RW et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178 (2): 203–11.
- 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 Low Genit Tract Dis* 2013; 17 (3): 340–5.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Погосин Шаке Манвеловна – аспирант научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НЦАГиП им. В.И.Кулакова». E-mail: shaqroxos@mail.ru
Межевитинова Елена Анатольевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотр. научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НЦАГиП им. В.И.Кулакова»
Абакарова Патимат Рапиетовна – канд. мед. наук, науч. сотр. научно-поликлинического отд-ния ФГБУ «НЦАГиП им. В.И.Кулакова»
Донников Андрей Евгеньевич – канд. мед. наук, зав. отд-нием молекулярно-генетических методов ФГБУ «НЦАГиП им. В.И.Кулакова»
Муравьева Вера Васильевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. микробиологии ФГБУ «НЦАГиП им. В.И.Кулакова»

- Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, Gow NAR. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nat Rev Microbiol* 2008; 6 (1): 67–78.
- Roeder A, Kirschning CJ, Rupec RA et al. Toll-like receptors as key mediators in innate antifungal immunity. *Med Mycol* 2004; 42 (6): 485–98.
- Naglik JR, Moyes D. Epithelial cell innate response to *Candida albicans*. *Adv Dent Res* 2011; 23 (1): 50–5.
- Hernández-Santos N, Gaffen SL. Th17 cells in immunity to *Candida albicans*. *Cell Host and Microbe* 2012; 11 (5): 425–35.
- Gaffen SL, Hernández-Santos N, Peterson AC. IL-17 signaling in host defense against *Candida albicans*. *Immunol Res* 2011; 50 (2–3): 181–7.
- Gladiator A, Wangler N, Trautwein-Weidner K, LeibundGut-Landmann S. Cutting edge: IL-17-secreting innate lymphoid cells are essential for host defense against fungal infection. *J Immunol* 2013; 190 (2): 521–5.
- LeibundGut-Landmann S, Wutrich M, Hohl TM. Immunity to fungi. *Cur Opin Immunol* 2012; 24 (4): 449–58.
- Wutrich M, Deepe GS, Klein B. Adaptive immunity to fungi. *Annu Rev Immunol* 2012; 30: 115–48.
- Sallusto F, Zielinski CE, Lanzavecchia A. Human Th17 subsets. *Eur J Immunol* 2012; 42 (9): 2215–20.
- Kuchbroo VK, Awasthi A. Emerging new roles of Th17 cells. *Eur J Immunol* 2012; 42 (9): 2211–4.
- Borges S, Silva J, Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Arch Gynecol Obstet* 2014; 289 (3): 479–89.
- Coudeyras S, Jugie G, Vermerie M, Forestier C. Adhesion of human probiotic *Lactobacillus rhamnosus* to cervical and vaginal cells and interaction with vaginosis-associated pathogens. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2008; 2008.
- Zárate G, Nader-Macias ME. Influence of probiotic vaginal lactobacilli on in vitro adhesion of urogenital pathogens to vaginal epithelial cells. *Lett Appl Microbiol* 2006; 43 (2): 174–80.
- Reid G, Kim SO, Köbler GA. Selecting, testing and understanding probiotic microorganisms. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006; 46 (2): 149–57.
- Ebrström S, Daroczy K, Rylander E et al. Lactic acid bacteria colonization and clinical outcome after probiotic supplementation in conventionally treated bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *Microbes Infect* 2010; 12 (10): 691–9.
- For U. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. *Obstet Gynecol* 2006; 107 (5): 1195–206.
- Бурменская О.В. Молекулярно-генетические маркеры иммунного ответа при воспалительных заболеваниях органов женской репродуктивной системы. Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2014. / Burmenskaia O.V. Molekuliarno-geneticheskie markery immunnogo otveta pri vospalitel'nykh zabollevaniykh organov zhenskoi reproduktivnoi sistemy. Dis. ... d-ra med. nauk. M., 2014. [in Russian]
- Бурменская О.В., Байрамова Г.Р., Непша О.С. и др. Состояние локального иммунитета при хроническом рецидивирующем вульвовагинальном кандидозе. *Акуш. и гинекол.* 2011; 1. / Burmenskaia O.V., Bairamova G.R., Nepsba O.S. i dr. Sostoianie lokal'nogo immuniteta pri khronicheskom retsidiviruyushchem vulvovaginal'nom kandidoze. *Akush. i ginekol.* 2011; 1. [in Russian]
- Lamont RF, Sobel JD, Akins RA et al. The vaginal microbiome: New information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG: An Int J Obstet Gynaecol* 2011; 118 (5): 533–49.
- Foster LM, Tompkins TA, Dahl WJ. A comprehensive post-market review of studies on a probiotic product containing *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Lactobacillus rhamnosus* R0011. *Benef Microbes* 2011; 2 (4): 319–34.
- Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol* 2012; 66: 371–89.
- Gopinath S, Iwasaki A. Cervicovaginal Microbiota: Simple Is Better. *Immunity* 2015; 42 (5): 790–1.
- Liu MB, Xu SR, He Y et al. Diverse vaginal microbiomes in reproductive-age women with vulvovaginal candidiasis. *PLoS One* 2013; 8 (11).
- Hise AG, Tomalka J, Gamesan S et al. An essential role for the NLRP3 inflammasome in host defense against the human fungal pathogen *Candida albicans*. *Cell Host Microbe* 2009; 5 (5): 487–97.
- Steele C, Fidel PL. Cytokine and chemokine production by human oral and vaginal epithelial cells in response to *Candida albicans*. *Infect Immun* 2002; 70 (2): 577–83.
- Cheng S-C, van de Veerdonk F, Smeekens S et al. *Candida albicans* dampens host defense by downregulating IL-17 production. *J Immunol* 2010; 185 (4): 2450–7.
- Van de Veerdonk FL, Marijissen RJ, Kullberg BJ et al. The Macrophage Mannose Receptor Induces IL-17 in Response to *Candida albicans*. *Cell Host Microbe* 2009; 5 (4): 329–40.
- Zijfel PF, Skerka C, Kupka D, Luo S. Immune escape of the human facultative pathogenic yeast *Candida albicans*: The many faces of the *Candida* Pra1 protein. *Int J Med Microbiol* 2011; 301 (5): 423–30.
- Gantner BN, Simmons RM, Underhill DM. Dectin-1 mediates macrophage recognition of *Candida albicans* yeast but not filaments. *EMBO J* 2005; 24 (6): 1277–86.
- Heinsbroek SEM, Brown GD, Gordon S. Dectin-1 escape by fungal dimorphism. *Trends Immunol* 2005; 26 (7): 352–4.