

РОЛЬ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ

В РАЗВИТИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНОГО КАНДИДОЗА И ТАКТИКА ТЕРАПИИ

Актуальность. По данным литературы, вульвовагинальный кандидоз (ВВК) диагностируется у 75% женщин в течение жизни, а у 5–8% женщин развивается рецидивирующее его течение (4 и более эпизода обострения в течение 12 месяцев). Рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз (РВВК) часто наблюдается при наличии факторов риска развития, тем не менее довольно часто рецидивирующее течение заболевания развивается у женщин, не имеющих очевидных факторов риска. Данные литературы показывают, что развитие рецидивирующей грибковой инфекции зачастую обусловлено нарушением локального иммунного ответа, которое ассоциировано с полиморфизмом генов иммунной системы. Цель исследования. Разработать критерии прогнозирования рецидивирующего течения вульвовагинального кандидоза для повышения эффективности терапии. **Результаты исследования.** По результатам нашего исследования было установлено, что лидирующим видом грибов, выделенных при остром и рецидивирующем ВВК, по-прежнему остается *C. albicans*, однако у женщин с рецидивирующим течением ВВК встречаемость грибов *non-C. albicans* достоверно выше по сравнению с пациентками с острым ВВК ($p=0,037$). Также в полученных данных определения чувствительности показано, что большинство исследуемых штаммов дрожжевых грибов (97,5%) чувствительно к флуконазолу. При этом резистентность была выявлена только у 10,5% штаммов *non-C. albicans*. Определение генетической предрасположенности к развитию рецидивирующего течения ВВК при помощи модели предикции, полученной в результате нашего исследования, показало, что у 77,8% женщин с генетической предрасположенностью развиваются рецидивы ВВК. Учитывая эти результаты и основываясь на международных рекомендациях (CDC, ВОЗ, 2011 г.) о том, что при РВВК целесообразно назначение противорецидивной противогрибковой терапии, можно сделать вывод, что пациенткам с наличием генетической предрасположенности к развитию рецидивов ВВК целесообразно назначение противорецидивной противогрибковой терапии.

Ключевые слова: вульвовагинальный кандидоз (ВВК), рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз (РВВК), генетическая предрасположенность к грибковым инфекциям, терапия рецидивирующего ВВК.

S.M. POGOSYAN, MD, E.A. MEZHEVITINOVA, PhD in medicine, A.E. DONNIKOV, PhD in biology, V.V. MURAVYOVA, PhD in medicine, P.R. ABAKAROVA, Y.S. HLEBKOVA

Kulakov Scientific Centre for Obstetrics, Gynaecology and Perinatology of the Ministry of Health of Russia, Moscow

ROLE OF GENOTYPING FEATURES IN THE DEVELOPMENT OF RECURRENT VULVOVAGINAL CANDIDIASIS AND THERAPY TACTICS

Relevance: According to the literature, Vulvovaginal candidiasis (VVC) is diagnosed in 75% of women during life, and in 5-8% of women its recurrent course is developed (four or more episodes of exacerbation during 12 months). Recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC) is often observed in the presence of development risk factors, but often the recurrent course of the disease is developing among women without obvious risk factors. The literature shows that the development of a recurrent fungal infection is often caused by a violation of the local immune response, which is associated with the polymorphism of the immune system genes.

Objective of the study: To develop criteria for forecasting the recurrent current vulvovaginal candidiasis to improve the effectiveness of therapy.

Study results: As a result of our study, it has been found that *C. albicans* remains the leading fungal species in the acute and recurrent VVC, but women with the recurrent course of VVC the prevalence of non-*C. Albicans* fungi is reliably higher than the patients with acute VVC ($P = 0.037$). Also, the sensitivity data obtained shows that most of the studied yeast fungi (97.5%) are sensitive to fluconazole. However, only in 10.5% of the non-*C. Albicans* strains resistance was detected.

The determination of genetic predisposition to develop the recurrent current VVC, using the prediction model derived from our study, revealed that 77.8% of women with a genetic predisposition are developing a relapse of VVC. In view of these results and based on international recommendations (CDC, WHO, 2011) that it is appropriate to indicate the anti-recurring antifungal treatment to RVVC, it can be concluded that for patients with genetic predisposition to the development of recurrent VVC it is advisable to indicate the anti-recurrent antifungal therapy.

Keywords: Vulvovaginal candidiasis (VVC), recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC), genetic predisposition to fungal infections, recurrent VVC therapy.

Вульвовагинальный кандидоз (ВВК) представляет собой грибковое поражение вульвы и слизистой оболочки влагалища. По данным литературы, 75% женщин в течение жизни переносят хотя бы один эпизод ВВК, из них у 40–50% встречается рецидив заболе-

вания [1]. У 5–8% женщин развивается рецидивирующее течение ВВК (РВВК) (4 и более эпизода обострения в течение 12 месяцев) [2–4], а у 20–30% женщин встречается колонизация влагалища дрожжевыми грибами без признаков вульвовагинита (бессимптомная колонизация) [3, 5].

Результаты наблюдения, в котором в течение 12 месяцев четырехкратно проводилось исследование влагалищной микрофлоры здоровых женщин, показали, что по меньшей мере однократная колонизация влагалища грибами рода *Candida* (без проявления симптомов ВВК) встречалась у 70% обследуемых женщин. Однако только у 4% пациенток асимптомная колонизация сохранялась в течение всего периода исследования [6].

Рецидивирующее течение ВВК часто наблюдается при наличии факторов риска его развития: некомпенсированный сахарный диабет; беременность; иммуносупрессивное состояние; прием комбинированных оральных контрацептивов (КОК), антибиотиков, глюкокортикостероидов; изменения в составе и функциональной активности микрофлоры влагалища и т. д. [7]. Тем не менее довольно часто рецидивирующее течение заболевания развивается у женщин, не имеющих очевидных факторов риска его развития. В последние годы, наряду с общепризнанными факторами риска, появляются данные, указывающие на нарушения локального иммунного ответа при грибковой инфекции, которые ассоциированы с полиморфизмом генов иммунной системы [8–17]. Было показано, что Pro631His – полиморфизм гена TLR2 ассоциирован с РВВК и повышает вероятность развития рецидивирующего течения заболевания почти в 3 раза [18]. Кроме того, Nahum и соавторы сообщили, что наличие L412F-варианта полиморфного локуса гена TLR3 повышает риск развития хронического кандидоза кожи и слизистых оболочек (СМС – chronic mucocutaneous candidiasis), предположительно посредством снижения продукции IFN γ [19]. A Platina и соавторы выявили 3 SNP (точечный полиморфизм – single nucleotide polymorphism) в гене TLR1 (R80T, S248N, I602S), которые, по мнению авторов, предрасполагают к развитию кандидемии [20]. С развитием кандидемии был ассоциирован также R753Q-вариант полиморфного локуса гена TLR2, носители которого имели сниженный уровень IFN- γ и IL-8 и повышенный риск развития кандидемии [21]. Описаны некоторые полиморфизмы генов интерлейкинов, ассоциированных с рецидивирующим кандидозом. Например, Vabula и соавторами было выявлено, что полиморфизм гена IL-4 (IL-4:-589C>T) ассоциирован с РВВК, и аллель T в позиции -589 достоверно чаще встречается у женщин с рецидивирующим течением ВВК. Они также показали, что при гомозиготном носительстве данного полиморфизма (IL-4:-589TT) отмечались повышенное содержание IL-4, а также сниженные концентрации NO (монооксид азота) и MBL в содержимом влагалища [14]. Кроме того, была выявлена ассоциация рецидивирующего течения грибковой инфекции слизистых оболочек с полиморфизмом гена IL-12R β 1 [22].

Также установлена ассоциация хронического кандидоза кожи и слизистых оболочек (СМС – chronic mucocutaneous candidiasis) с полиморфизмом генов IL17RA и IL-17F. Показано, что при наличии полиморфизма в генах IL17RA и IL-17F приводят к ингибированию IL-6 и GRO, что, вероятно, обуславливает снижение иммунного ответа и способствует развитию СМС [23].

По международным рекомендациям (CDC, ВОЗ, 2011 г.) препаратом выбора для системной терапии как острого, так и рецидивирующего ВВК является флуконазол 150 мг. Это обусловлено тем, что большинство дрожжевых грибов обладают высокой чувствительностью к флуконазолу. По данным различных исследований, 100% штаммов *S. albicans* и 76,5–88,5% штаммов non-*S. albicans* чувствительны к флуконазолу. В большинстве случаев резистентность к флуконазолу встречается у штаммов *S. krusei* и *S. glabrata* [24–26].

Таким образом, целью нашего исследования было разработать критерии прогнозирования рецидивирующего течения ВВК для повышения эффективности терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе научно-поликлинического отделения (руководитель отделения – д.м.н., профессор Прилепская В.Н.) федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор Сухих Г.Т.) в период с октября 2012 г. по сентябрь 2015 г. Исследование было одобрено комиссией по этике ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

В исследование были включены 94 женщины с острым и рецидивирующим ВВК. Все пациентки были 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 г. №572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)». Дополнительно проводилось количественное определение состава микрофлоры влагалища методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и качественное определение возбудителей урогенитальных инфекций, таких как *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoea*. При выявлении вышеперечисленных микроорганизмов пациенткам назначалось соответствующее лечение, однако данные женщины исключались из исследования. Также проводилась видовая идентификация грибов и лактобацилл в рамках микробиологического исследования (лаборатория микробиологии «НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, руководитель лаборатории Припутневич Т.В.) и при помощи ПЦР.

Микробиологическое исследование и микроскопическое исследование мазков, окрашенных по Граму, выполнялись в лаборатории микробиологии ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель лаборатории Припутневич Т.В.). Культуральное исследование предусматривало выделение условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) из вагинального отделяемого, видовую идентификацию и количественную оценку всех выделенных УПМ бактериальной и грибковой природы.

Материалом для исследования служило отделяемое, взятое из бокового или заднего свода влагалища. Образцы биоматериала засеивали на стандартные питательные среды для выделения максимально возможного спектра микроорганизмов.

Выделенные дрожжевые грибы тестировали на чувствительность к антимикотикам с помощью тест-системы «Fungi-test» (США), воспроизводящей стандарт M-27 NCCLS и включающей 6 препаратов: 5-флюцитозин, амфотерицин, миконазол, кетоконазол, итраконазол, флуконазол. Тест-система, разработанная с учетом минимально подавляющей концентрации препаратов и break point, позволяет определять чувствительные, устойчивые штаммы, а также промежуточный тип устойчивости – дозозависимую чувствительность (ДЗЧ).

Мазки, окрашенные по Граму, оценивались под микроскопом при 1000-кратном увеличении и описывались: тип эпителия слизистой оболочки влагалища; лейкоцитарная реакция; микробная обсемененность; морфологический состав микрофлоры; наличие/отсутствие грибов и спор грибов, фрагментов псевдомицелия, трихомонад, «ключевых клеток», признаков фагоцитоза и цитолиза.

Для определения генетической предрасположенности к развитию рецидивирующего течения ВБК были проанализированы некоторые полиморфные локусы генов иммунной системы. Анализ полиморфизма генов производился в лаборатории молекулярно-генетических методов «НЦАГиП им. академика В.И. Кулакова» МЗ РФ (руководитель лаборатории Трофимов Д. Ю.). Материалом для выполнения исследования служила периферическая кровь.

Генотипирование проводилось по следующим локусам: 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]; TGFBI:-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].

В специально разработанные индивидуальные карты были внесены подробные данные анамнеза, осмотра и результатов исследований.

Женщины, включенные в исследование, были разделены на 2 группы в зависимости от наличия или отсутствия рецидивирующего течения ВБК. В I группу вошли женщины с РВБК (n=59), а II группу составили пациентки с острым ВБК (ОВБК) (n=35).

ВБК 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 лабораторных исследований. ВБК считался рецидивирующим при указании на 4 и более рецидива ВБК в течение одного года [27].

Пациенткам назначалось лечение в соответствии с международными рекомендациями (CDC, ВОЗ, 2011 г.) и учитывая данные литературы, показывающие, что боль-

шинство штаммов дрожжевых грибов (77–100%) обладают высокой чувствительностью к флуконазолу. Женщины с ОВБК получали флуконазол 150 мг внутрь, трехкратно с интервалом 2 дня. Пациентки с РВБК получали стандартную терапию (флуконазол 150 мг внутрь, трехкратно с интервалом 2 дня), далее противорецидивную терапию: флуконазол 150 мг еженедельно в течение 6 мес.). При развитии ВБК на фоне вагинального дисбиоза пациентки, помимо противогрибковых препаратов, получали терапию, направленную на нормализацию вагинальной микрофлоры (тержинан). Наблюдение за пациентами с ОВБК осуществлялось в течение 12 месяцев после окончания терапии, а пациентки с РВБК находились под наблюдением в течение 6 месяцев после окончания противорецидивной терапии. В период наблюдения оценивались эффективность назначенной терапии и частота возникновения рецидивов.

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

В качестве меры центральной тенденции количественных признаков была выбрана медиана (Me), а в качестве интервальной оценки – верхний (H) и нижний квартили (L). Результаты представлены в виде Me (L-H).

Для оценки различий в группах применяли методы непараметрической статистики: тест Манна – Уитни. Для сравнения качественных данных в 2 и более группах и установления значимых различий между ними использовали тест χ^2 . Поправки Бонферрони применялись для сравнения непрерывных данных между группами.

Для сравнения бинарных данных мерой сравнения явилось отношение шансов (ОШ) с использованием метода логистической регрессии с построением ROC-кривой для контроля множественных конфаундеров.

При построении бинарной логистической регрессионной модели использовался метод обратной селекции. Качество приближения регрессионных моделей при каждом последующем шаге оценивалось при помощи функции подобия – отрицательного удвоенного значения логарифма этой функции (-2LL). Оценка качества полученных моделей проводилась с помощью ROC-анализа. Часть дисперсии, объяснимая с помощью логистической регрессии, вычислялась по методу Наделькеркса.

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.

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЖЕНЩИН ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

Подробный анализ анамнестических данных исследуемых женщин показал, что все женщины, включенные в исследование, проживали в одинаковых климатогеогра-

фических условиях (преимущественно в Москве и Московской области), имели среднее или высшее образование (20 (21,2%) и 74 (78,8%) соответственно). Профессиональных вредностей при сборе анамнеза не отмечали. Курение отметили 19 женщин (20,2%). Все пациентки, принимавшие участие в исследовании, использование наркотических веществ отрицали. По вышепредставленным показателям группы исследования статистически значимо не отличались, $p > 0,05$.

Все исследуемые женщины были в репродуктивном возрасте. Средний возраст пациенток составил $30,2 \pm 5,8$ года ($30,4 \pm 6,3$ года в I группе и $30,0 \pm 4,4$ года во II группе). Статистически значимых различий между группами выявлено не было ($p = 0,883$).

Все пациентки имели женский тип телосложения и правильно развитые вторичные половые признаки. Судя по индексу массы тела (ИМТ) нормальную массу тела (ИМТ 18,5–24,99) имели 77 исследуемых женщин, что составило 81,9%. Дефицит массы тела (ИМТ менее 18,5) был выявлен у 6 (6,4%) пациенток, и избыток массы тела (ИМТ 25–30) отмечался у 9 (9,6%) пациенток. Ожирением (ИМТ более 30) страдали 2 женщины (2,1%). По антропометрическим данным группы исследования достоверно не различались ($p > 0,05$).

Средний возраст начала половой жизни у женщин, принявших участие в исследовании, составил 18,9 лет, min 14 лет, max 35 лет, mediana 18 лет. Статистически значимых различий в возрасте начала половой жизни между группами выявлено не было ($p = 0,948$). Постоянного полового партнера (в течение последнего года) имели 56 пациенток (59,6%), двух и более – 29 (30,8%) женщин. Шесть (6,4%) женщин половые контакты в течение последнего года отрицали, и 3 (3,2%) пациентки отметили отсутствие половых контактов в анамнезе (virgo). При статистическом анализе данных было выявлено, что количество половых партнеров у женщин, включенных в I группу исследования (женщины с РВБК), достоверно выше (min-0; max-14; медиана – 4; интерквартильный интервал – 2-6) по сравнению с женщинами из II группы (женщины с ОВБК) (min-1; max-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 количества половых партнеров в анамнезе может способствовать рецидивирующему течению ВБК. Однако надо отметить, что 3 (3,2%) пациентки с рецидивирующим течением заболевания половые контакты в анамнезе отрицали (virgo).

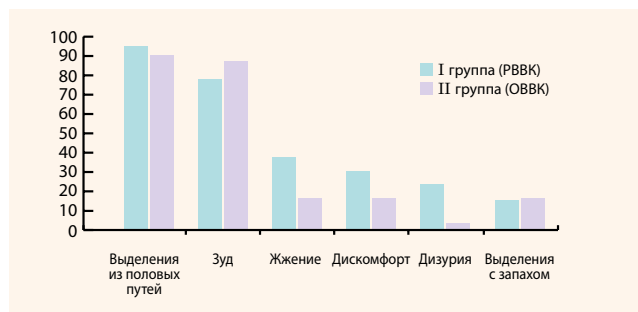
При оценке данных соматического и гинекологического здоровья статистически достоверных различий между группами исследования выявлено не было ($p > 0,05$).

Пациентки, включенные в I группу исследования (женщины с РВБК), отмечали обострение ВБК от 4 до 12 раз (в среднем 6 эпизодов обострения) в течение 12 месяцев. Из женщин, включенных во II группу исследования, 19 (54,3%) пациенток отмечали рецидивы ВБК не более 1–3 эпизодов в течение года, 5 (14,3%) женщин отмечали единичные эпизоды ВБК и 11 пациенток (31,4%) отрицали эпизоды ВБК в анамнезе.

СТРУКТУРА ЖАЛОБ И СОСТОЯНИЕ ВАГИНАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ

В результате анализа предъявляемых пациентками жалоб установлено, что наиболее часто женщины отмечали патологические выделения из половых путей (96,8%), зуд в области вульвы и влагалища (81,9%), диспареунию (14,9%) и дизурию (15,9%). Более подробно данные представлены в виде диаграммы (рис. 1).

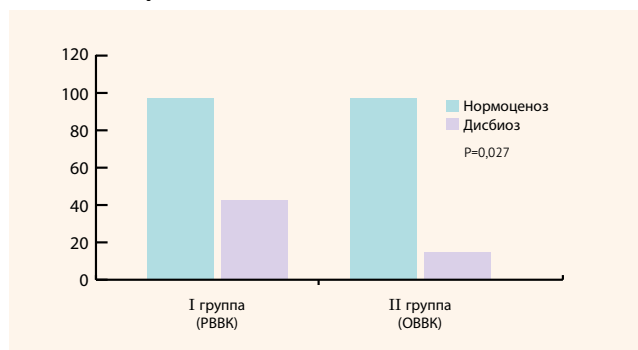
Рисунок 1. Встречаемость различных симптомов у женщин с ВБК



Статистический анализ показал, что в целом структура жалоб при ОВБК и РВБК сопоставима, однако женщины с РВБК достоверно чаще отмечали выделения с запахом (23,7%) по сравнению с женщинами с ОВБК (2,9%) ($p = 0,013$), что, вероятно, обусловлено частой встречаемостью вагинального дисбиоза при РВБК по сравнению с ОВБК ($p = 0,008$).

Для оценки состояния вагинальной микрофлоры при ОВБК и РВБК было проведено количественное определение состава вагинальной микрофлоры методом ПЦР (фемофлор) и микробиологическое исследование отделяемого влагалища. При анализе данных было установлено, что у 42,4% пациенток, включенных в I группу исследования, РВБК протекал на фоне вагинального дисбиоза (доля лактобактерий меньше 80% от общей бактериальной массы). У женщин с ОВБК (II группа исследования) дисбиоз влагалища был выявлен в 17,1% случаев, что было достоверно ниже по сравнению с женщинами с РВБК ($p = 0,027$) (рис. 2).

Рисунок 2. Структура дисбиоза/нормоценоза влагалища у пациенток с ВБК



Оценка результатов, полученных при микроскопическом исследовании мазков из влагалища, выявила, что у 74,6% женщин с РВБК и у 74,3% женщин с ОВБК количество лейкоцитов было более 10 в поле зрения, у 25,4% пациенток с РВБК и 25,7% пациенток с ОВБК лейкоцитарная реакция была в пределах нормы (до 10 в поле зрения). Статистический анализ показал, что у женщин I и II групп количество лейкоцитов в мазках между I и II группами выявлено не было ($p=0,684$).

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА И ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ

Анализ данных «Фемофлор 16» также показал, что в составе вагинальной микрофлоры *Candida* spp. в количестве 103,0–103,9 гз/обр. обнаруживалась у 19,1% исследуемых пациенток (18 женщин), в количестве 104,0–104,9 гз/обр. *Candida* spp. была выявлена у 31,3% женщин (37 пациенток), а в количестве 105,0 гз/обр. и более – у 30,5% пациенток (39 женщин). По количественной представленности *Candida* spp. в составе вагинальной микрофлоры группы исследования достоверно не различались ($p>0,05$). Однако анализ данных видовой идентификации грибов показал, что у женщин с рецидивирующим течением ВБК встречаемость грибов non-*C. albicans* достоверно выше ($p=0,037$) по сравнению с женщинами с ОВБК.

По данным видовой идентификации грибов было установлено, что у женщин с РВБК грибы non-*C. albicans* встречались достоверно чаще по сравнению с ОВБК ($p=0,04$). Данные представлены на рисунке 3.

Рисунок 3. Встречаемость различных видов грибов при остром и рецидивирующем ВБК

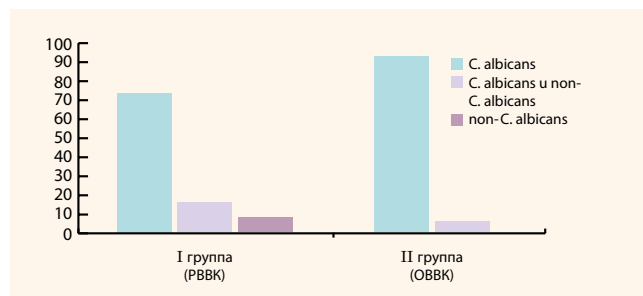
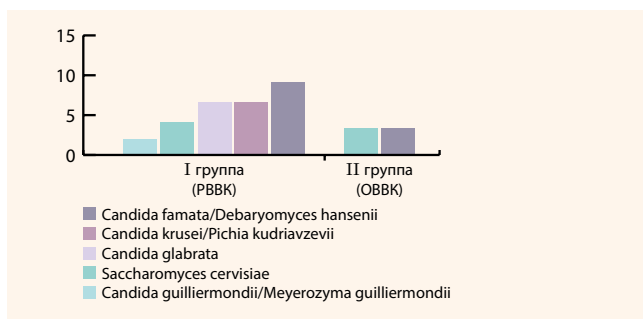


Рисунок 4. Частота выявления различных видов дрожжевых грибов среди non-*C. albicans* изолятов у пациенток с рецидивирующим течением ВБК



ГРУППЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе микробиологического исследования была изучена чувствительность 80 штаммов выделенных дрожжевых грибов к 6 антимикотикам: амфотерицину, флуцитозину, итраконазолу и флуконазолу, кетоконазолу и миконазолу. Из них 61 штамм *C. albicans*, 12 штаммов *C. glabrata*, 4 штамма *C. krusei*, 1 штамм *C. kefir* и *C. guilliermondii*, а также 1 штамм *Saccharomyces cerevisiae*. На основании определения минимальной ингибирующей концентрации установлено, что 2 штамма *C. albicans* были резистентны, а у 2 штаммов определялась ДЗЧ к итраконазолу. У 1 штамма была выявлена резистентность к итраконазолу и флуцитозину, а еще у 1 штамма была ДЗЧ к кетоконазолу. ДЗЧ к итраконазолу была выявлена у 7 штаммов *C. glabrata*, также у 1 штамма *C. glabrata* была выявлена резистентность к амфотерицину, миконазолу и флуконазолу. ДЗЧ к итраконазолу, кетоконазолу, миконазолу, флуконазолу и нистатину была выявлена у одного штамма *C. krusei*. Данный штамм также был резистентен к клотримазолу и амфотерицину. Резистентность к итраконазолу и ДЗЧ к миконазолу также была выявлена у одного штамма *C. guilliermondii*. По результатам тестирования чувствительности дрожжевых грибов к антимикотикам установлено, что большинство штаммов (93,4%) *C. albicans* были чувствительны к определяемому спектру антимикотиков, а резистентность достоверно чаще выявлялась у грибов non-*C. albicans* (15,8%). Множественная резистентность к 2–4 антимикотикам, в том числе и к флуконазолу, была выявлена у 1 штамма *C. glabrata* (8,3%) и 1 штамма *C. krusei* (25,0%). Все исследуемые штаммы *C. albicans* (100%) были чувствительны к флуконазолу. Все резистентные штаммы грибов, а также штаммы с ДЗЧ были выделены у женщин с РВБК.

Таким образом, было установлено, что лидирующим видом грибов, выделенных при ОВБК и РВБК, по-прежнему остается *C. albicans*, однако у женщин с рецидивирующим течением ВБК встречаемость грибов non-*C. albicans* достоверно выше по сравнению с пациентками с ОВБК ($p=0,037$). Также полученные данные определения чувствительности показали, что большинство исследуемых штаммов дрожжевых грибов (97,5%) чувствительно к флуконазолу. При этом резистентность была выявлена только у 10,5% штаммов non-*C. albicans*.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАЗВИТИЮ РВБК

Для выявления ассоциации генотипа пациенток с развитием у них рецидивирующего течения ВБК были исследованы некоторые полиморфные локусы следующих генов: IL-4, IL4R, TLR9, CCL2, IL-1 α , IL-1 β , IL1R1, TGF β 1, IL-10, TLR4, TLR2. Распределение частот генотипов для всех полиморфизмов основной группы сравнения соответствовало закону Харди – Вайнберга. Был проведен анализ распределения генотипов исследуемых генов среди обследуемых пациенток и была выявлена положительная ассоциация наличия аллеля С полиморфного локуса -33 С>Т гена IL4, а также наличия аллеля G поли-

морфного локуса -511 A>G гена IL1B с развитием рецидивирующего течения ВВК.

На основании данных генотипа женщин нами была разработана прогностическая модель для предсказания возможности развития рецидивов ВВК.

Для прогнозирования особенностей течения ВВК был применен метод бинарной логистической регрессии с данными о генотипе вышепредставленных генов иммунной системы. В бинарной логистической регрессионной модели исходом является переменная, характеризующая рецидивирование ВВК, предикторами – генотип по следующим полиморфным локусам: IL1B:-511A>G [rs16944]; IL4:-33 C>T [rs2070874].

Результаты рассчитанных коэффициентов в логистической регрессии и проверке их значимости приведены в таблице.

Таблица. Результаты рассчитанных коэффициентов независимых переменных и проверка их значимости

Независимые переменные	B (коэффициент регрессии b)	S.E. (стандартная ошибка)	Wald (Вальд)	Df	Sig. (значимость)	Exp (B)
Полиморфизм гена IL1B:-511A>G	1,129	0,340	11,012	1	0,001	3,093
Полиморфизм гена IL4:-33 C>T	1,185	0,418	8,047	1	0,005	3,271

Классифицирующая дискриминантная функция имеет вид:

$$Z=1,129*IL1B+1,185*IL4-2,682, \text{ где}$$

2,682 – константа,

IL1B – количество аллелей G в локусе -511 A>G гена IL1B,

IL4 – количество аллелей C в локусе -33 C>T гена IL4.

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

Чувствительность (Se) составила 78,2%, специфичность (Sp) – 54,3%, ОШ – 4,25, предсказательная ценность положительного результата (PPV) составила 72,9%, предсказательная ценность отрицательного результата (NPV) – 61,3%.

ТЕРАПИЯ И ДИНАМИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

Исследуемые женщины получали противогрибковую терапию согласно международным рекомендациям. Женщины с ОВВК получали флуконазол 150 мг внутрь, трехкратно с интервалом 2 дня. Пациентки с РВВК получали стандартную терапию (флуконазол 150 мг внутрь, трехкратно с интервалом 2 дня), далее противорецидивную терапию флуконазолом 150 мг еженедельно в течение 6 мес.). Четыре женщины с РВВК отказались от противорецидивной терапии, и им был назначен короткий курс противогрибковой терапии.

В период противорецидивной терапии обострение ВВК было выявлено у 3 женщин (5,1%), одна из которых отмечала пропуски очередных доз препарата, а у двух пациенток были выявлены резистентные к большинству противогрибковым препаратам, в том числе к флуконазолу, *S. krusei* и *S. glabrata*. Данным пациенткам была назначена терапия с учетом чувствительности микроорганизма.

Для оценки эффективности терапии и частоты возникновения рецидивов ВВК после лечения пациентки находились под наблюдением в течение 6 месяцев после окончания лечения. В период наблюдения один и более эпизодов обострения ВВК был установлен у 19 женщин (34,5%) с РВВК и у 31,4% женщин с ОВВК. Анализ полученных данных показал, что после проведения противорецидивной терапии частота возникновения реци-

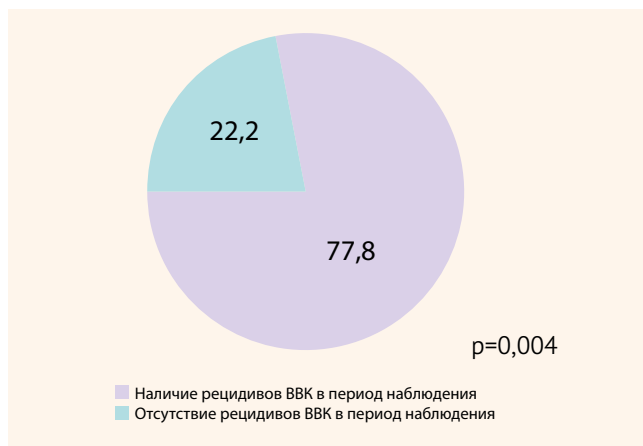
дивов ВВК была достоверно ниже по сравнению с периодом до противорецидивной терапии ($p=0,038$). Стоит отметить, что у женщин, отказавшихся от противорецидивной терапии, не отмечалось уменьшение эпизодов обострения ВВК в период наблюдения. У одной пациентки с РВВК, обусловленным резистентным штаммом *S. krusei*, после проведения противогрибковой терапии с учетом чувствительности в период наблюдения, эпизодов ВВК не было установлено. У второй пациентки с РВВК, обусловленным резистентным штаммом *S. glabrata*, после проведения противогрибковой терапии с учетом чувствительности уменьшение эпизодов ВВК не наблюдалось.

У всех пациенток с ОВВК отмечалось прекращение симптомов ВВК и нормализация вагинальной микрофлоры после лечения флуконазолом.

Для проверки вышеописанной прогностической модели был проведен анализ генотипа женщин с ОВВК и было установлено, что из пациенток с ОВВК генетическую предрасположенность к развитию РВВК имели 25,7% женщин. Из них рецидив заболевания в период наблюдения был установлен у 77,8%, что было достоверно больше по сравнению с пациентками, не имевшими рецидив ВВК (22,2%), $p=0,004$ (рис. 5).

Таким образом, вышепредставленные данные показывают, что при наличии генетической предрасположенности рецидив ВВК наблюдается у 77,8% женщин. Это позволяет сделать вывод, что при выявлении у пациенток с ВВК гене-

Рисунок 5. Встречаемость рецидивов ВБК при наличии генетической предрасположенности



тической предрасположенности к развитию рецидивирующего течения заболевания целесообразно назначение противорецидивирующей противогрибковой терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проблема РВБК по-прежнему остается весьма актуальной в гинекологической практике ввиду высокой распространенности самолечения – истинной причины заболевания. По данным литературы, 75% женщин репродуктивного возраста переносят по меньшей мере один эпизод ВБК. У 40–50% из них встречаются рецидивы заболевания, а у 5–8% ВБК приобретает рецидивирующее течение [1–5].

По данным литературы, в роли возбудителя ВБК в 80–85% случаев выступают грибы *S. albicans*, а в 15–20% случаев при ВБК выявляются грибы non-*S. albicans*, которые чаще представлены *S. glabrata*, *S. krusei* и *S. parapsilosis* [29]. По данным литературы, грибы *S. non-albicans* чаще встречаются при рецидивирующем течении ВБК [30], что было установлено и по данным нашего исследования. Полученные нами данные микробиологического исследования показали, что у женщин с РВБК *S. albicans* встречалась в 75,3% случаев, *S. non-albicans* в 22,0% случаев, а у 2,7% пациенток была выявлена ассоциация двух видов грибов. Однако у пациенток с ОВБК были выявлены только *S. albicans* ($p=0,001$) (рис. 4).

Исследователи полагают, что развитие рецидивирующего течения ВБК, вызванного грибами non-*S. albicans*, обусловлено более частой встречаемостью резистентности грибов non-*S. albicans* к противогрибковым препаратам [31]. В исследовании Шарпан и соавторов было показано, что 99,6% штаммов *S. albicans* и 98,8% штаммов *S. parapsilosis*, полученных от пациентов с кандидемией, были чувствительны к флуконазолу. Резистентность к флуконазолу и вориконазолу была выявлена у 16,7% штаммов *S. tropicalis* и 6,8% штаммов *S. glabrata* [32]. Полученные нами данные о чувствительности грибов к антимикотикам также установили, что 93,4% штаммов *S. albicans* обладали чувствительностью к определяемому

спектру антимикотиков, а резистентность достоверно чаще выявлялась у грибов non-*S. albicans*. Множественная резистентность к 2–4 антимикотикам была выявлена у 1 штамма *S. glabrata*, 1 штамма *S. krusei* и 1 штамма *S. guilliermondii*. Все резистентные штаммы грибов, а также штаммы с ДЗЧ были выделены у женщин с РВБК.

Несмотря на то что инфицированность грибами non-*S. albicans*, а также наличие других факторов риска развития ВБК (гиперэстрогения, некомпенсированный сахарный диабет, прием КОК, иммуносупрессивное состояние и т.д.) могут способствовать развитию рецидивирующего течения ВБК, довольно часто РВБК развивается у женщин без очевидных факторов риска его развития. Исследования последних лет показывают, что развитие рецидивирующего/хронического кандидоза может быть обусловлено полиморфизмом генов иммунной системы, который приводит к нарушению полноценного иммунного ответа и тем самым способствует хронизации процесса [13, 16, 18, 33–35]. Rosentu и соавторы 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 *S. albicans* мононуклеарных клеток периферической крови, что наблюдалось у носителей Pro631His полиморфизма гена TLR2 [18].

В исследовании Ferwerda и соавторов было показано, что при наличии Tyr238X (ранний стоп-кодон) полиморфизма гена CLEC7A (ген, кодирующий Dectin-1) у пациентов наблюдалось рецидивирующее течение грибковой инфекции. Это объясняется тем, что у носителей Tyr238X полиморфизма гена CLEC7A наблюдается сниженный уровень Dectin-1 и нарушение распознавания β -глюкана. Это сопровождается снижением продукции ряда цитокинов (IL-17, IL-23 и IL-6) и нарушением иммунного ответа по Th17- и Th1-путям, что приводит к развитию рецидивирующей кандидозной инфекции [36]. В другой работе было показано, что наличие полиморфизма Tyr238X гена CLEC7A сопровождается достоверным снижением продукции IL-6, IL-8 и IFN- γ , однако склонности к развитию кандидемии у носителей данного полиморфизма выявлено не было [37]. Также описано влияние полиморфизма (Gln295X) гена CARD9 на развитие рецидивирующей кандидозной инфекции. Glockner и соавторы установили, что гомозиготное носительство данного полиморфизма ассоциировано с нарушением передачи сигнала активации от рецептора Dectin-1 и нарушением иммунного ответа по Th17, что сопровождается повышенной восприимчивостью к кандидозной инфекции [38]. Показано, что наличие точечного полиморфизма в генах, кодирующих паттерн, распознающие рецепторы (TLR1, TLR3, TLR4, TLR9, Dectin-1, MBL) и цитокины (TNF- α , IL-1 β , IL-1 α , IL-10, IL-4) ассоциированы с грибковой колонизацией и развитием инвазивной инфекции [13, 16, 18, 33–35].

При анализе данных, полученных в результате нашего исследования, также была показана ассоциация генотипа пациенток с развитием РВБК. Была выявлена положительная ассоциация наличия генотипа CC полиморфного

локуса -33 С>Т гена IL4, а также наличия аллеля G полиморфного локуса -511 G>A гена IL1B и отрицательная ассоциация наличия генотипа AA полиморфного локуса -2578 A>G гена CCL2 с РВВК. Было установлено, что при наличии у женщин генетической предрасположенности (по вышепредставленным локусам генов иммунной системы) развитие рецидивов ВВК встречается достоверно чаще по сравнению с женщинами, не имеющими генетической предрасположенности ($p=0,004$).

Таким образом, полученные нами результаты подтверждают данные литературы о том, что склонность к развитию рецидивирующей грибковой инфекции зачастую ассоциирована с нарушениями в генотипе пациенток.

Определение генетической предрасположенности к развитию рецидивирующего течения ВВК при помощи модели предикции, полученной в результате нашего исследования, показало, что у 77,8% женщин с генетической предрасположенностью развиваются рецидивы ВВК. Учитывая эти результаты и основываясь на международных рекомендациях (CDC, ВОЗ, 2011 г.) о том, что при РВВК целесообразно назначение противорецидивной противогрибковой терапии, можно сделать вывод, что пациенткам с наличием генетической предрасположенности к развитию рецидивов ВВК целесообразно назначение противорецидивной противогрибковой терапии.



ЛИТЕРАТУРА

- Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet* 369, 2007: 1961–1971.
- Sobel JD. *et al.* Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 178, 203–211 (1998).
- Foxman B, Muraglia R, Dietz J-P, Sobel JD. & Wagner J. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: results from an internet panel survey. *J. Low. Genit. Tract. Dis.* 17, 340–5 (2013).
- Sobel JD. *et al.* Vulvovaginal candidiasis: Epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 178, 203–211 (1998).
- Beikert FC, Le MT, Koeninger A, Technau K. & Clad A. Recurrent vulvovaginal candidosis: Focus on the vulva. *Mycoses* 54, (2011).
- Beigi RH, Meyn LA, Moore DM, Krohn MA & Hillier SL. Vaginal yeast colonization in non-pregnant women: a longitudinal study. *Obstet. Gynecol.* 104, 926–930 (2004).
- Borges S, Silva J & Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Arch. Gynecol. Obstet.* 289, 479–489 (2014).
- Calderon L, Williams R, Martinez M, Clemons KV & Stevens DA. Genetic susceptibility to vaginal candidiasis. *Med. Mycol.* 41, 143–7 (2003).
- Jaeger M, Plantinga TS, Joosten LA. B, Kullberg BJ & Netea MG. Genetic basis for recurrent vulvo-vaginal candidiasis. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 15, 136–142 (2013).
- Smeeckens S.P., van de Veerdonk F.L., Kullberg B.J. & Netea M.G. Genetic susceptibility to Candida infections. *EMBO Molecular Medicine* 5, 805–813 (2013).
- Rosenthal D. *et al.* Polymorphism in innate immunity genes and susceptibility to recurrent vulvovaginal candidiasis. *Journal de Mycologie Medicale* 19, 191–196 (2009).
- Puel A. *et al.* Inborn errors of human IL-17 immunity underlie chronic mucocutaneous candidiasis. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 12, 616–622 (2012).
- Babula O., Lazdane G., Kroica J., Ledger W.J. & Witkin S.S. Relation between recurrent vulvovaginal candidiasis, vaginal concentrations of mannose-binding lectin, and a mannose-binding lectin gene polymorphism in Latvian women. *Clin. Infect. Dis.* 37, 733–737 (2003).
- Babula O. *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.* 40, 1258–1262 (2005).
- De Luca A. *et al.* IL-22 and IDO1 Affect Immunity and Tolerance to Murine and Human Vaginal Candidiasis. *PLoS Pathog.* 9, (2013).
- Donders G.G.G, Babula O, Bellen G, Linhares IM & Witkin S.S. Mannose-binding lectin gene polymorphism and resistance to therapy in women with recurrent vulvovaginal candidiasis. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* 115, 1225–1231 (2008).
- Liu F, Liao Q. & Liu Z. Mannose-binding lectin and vulvovaginal candidiasis. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 92, 43–47 (2006).
- Rosenthal D.C. *et al.* Gene polymorphisms in pattern recognition receptors and susceptibility to idiopathic recurrent vulvovaginal candidiasis. *Front. Microbiol.* 5, 483 (2014).
- Nahum A, Dadi H, Bates A. & Roifman C. M. The biological significance of TLR3 variant, L412F, in conferring susceptibility to cutaneous candidiasis, CMV and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 11, 341–347 (2012).
- Plantinga T.S. *et al.* Toll-like receptor 1 polymorphisms increase susceptibility to candidemia. *J. Infect. Dis.* 205, 934–943 (2012).
- Woehrle T. *et al.* Pathogen specific cytokine release reveals an effect of TLR2 Arg753Gln during Candida sepsis in humans. *Cytokine* 41, 322–329 (2008).
- Ouederni M. *et al.* Clinical features of candidiasis in patients with inherited interleukin 12 Receptor B1 Deficiency. *Clin. Infect. Dis.* 58, 204–213 (2014).
- Ling Y. *et al.* Inherited IL-17RC deficiency in patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *J. Exp. Med.* 212, 619–31 (2015).
- Terças AL, Marques SG, Moffa EB, Alves MB, de Azevedo CM, Siqueira WL, M.C. No Title Antifungal Drug Susceptibility of Candida Species Isolated from HIV-Positive Patients Recruited at a Public Hospital in São Luís, Maranhão, Brazil. *Front Microbiol.* 2017 Mar 2;8298. doi 10.3389/fmicb.2017.00298. eCollection (2017). at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28303122>.
- PubMed, C. here to view optimized website for mobile devices J. is indexed with *et al.* No Title Identification and Antifungal susceptibility testing of Candida species: A Comparison of Vitek-2 system with conventional and molecular methods. 8, 139–146 (2016).
- Gharaghani M, Rezaei-Matehkolaei A, Zarei Mahmoudabadi A, K.B. No Title The Frequency, Antifungal Susceptibility and Enzymatic Profiles of Candida Species Isolated from Neutropenic Patients. *Jundishapur J Microbiol* (2016). at <https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28138378>.
- For U. ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists, Number 72, May 2006: Vaginitis. *Obstet. Gynecol.* 107, 1195–1206 (2006).
- Mendling W. Guideline: Vulvovaginal candidosis (AWMF 015/072), S2k (excluding chronic mucocutaneous candidosis). *Mycoses* 58, 1–15 (2015).
- Mahmoudi Rad M., Zafarghandi A.S., Amel Zabih M., Tavallaee M. & Mirdamadi Y. Identification of candida species associated with vulvovaginal candidiasis by multiplex PCR. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.* 2012, (2012).
- Holland J., Young M.L., Lee O. & C-A Chen, S. Vulvovaginal carriage of yeasts other than *Candida albicans*. *Sex. Transm. Infect.* 79, 249–50 (2003).
- Tortorano A.M. *et al.* Epidemiology of candidemia in Europe: Results of 28-Month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 23, 317–322 (2004).
- Chapman B, Slavin M, Marriott D, Halliday C, Kidd S, Arthur I, Bak N, Heath CH, Kennedy K, Morrissey CO, Sorrell TC, van Hal S, Keighley C, Goeman E, Underwood N, Hajkovicz K, Hofmeyr A, Leung M, Macesic N, Botes J, Blyth C. Australian and New Zealand Mycoses Interest Group. No Title Changing epidemiology of candidaemia in Australia. *J Antimicrob Chemother.* 2017 Apr 1;72(4)1103-1108. doi 10.1093/jac/dkw422. (2017). at <www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28364558>.
- Rosenthal D. *et al.* Polymorphism in innate immunity genes and susceptibility to recurrent vulvovaginal candidiasis. *J. Mycol. Med.* 19, 191–196 (2009).
- Wojtani M.D. K.H, De Aguiar L.M, Baracat E.C. & Linhares I.M. Association between mannose-binding lectin and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms and recurrent vulvovaginal candidiasis. *Arch. Gynecol. Obstet.* 285, 149–153 (2012).
- Giraldo P.C. *et al.* Mannose-binding lectin gene polymorphism, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis. *Obstet. Gynecol.* 109, 1123–1128 (2007).
- Ferwerda B. *et al.* Human dectin-1 deficiency and mucocutaneous fungal infections. *N Engl J Med* 361, 1760–1767 (2009).
- Plantinga T.S. *et al.* Early stop polymorphism in human DECTIN-1 is associated with increased candida colonization in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Clin. Infect. Dis.* 49, 724–732 (2009).
- Glocker E.-O. *et al.* A Homozygous CARD9 Mutation in a Family with Susceptibility to Fungal Infections. *N. Engl. J. Med.* 361, 1727–1735 (2009).