

**И.О. Боровиков, И.И. Куценко,  
Э.Р. Рубинина, Х.И. Горринг, Е.Э. Герасименко**  
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России», Краснодар

# Иммунокорректоры в терапии хронических вульвовагинальных кандидозов

**Боровиков Игорь Олегович / bio2302@mail.ru**

**Ключевые слова:** хронический вульвовагинальный кандидоз, антимикотики, иммуотропная терапия, рекомбинантный интерлейкин-2, Ронколейкин.

**Резюме.** Исследовано состояние местного иммунитета слизистой цервико-вагинальной зоны у женщин, больных хроническим вульвовагинальным кандидозом (ХВБК). Предложен новый комплексный патогенетически обоснованный метод лечения ХВБК с применением цитокинотерапии. *Цель исследования* – изучение роли нарушений местного иммунитета в иммунопатогенезе хронических вульвовагинальных кандидозов, разработка этиопатогенетически обоснованной терапии и определение ее клинико-микробиологической и иммунологической эффективности. *Материал и методы:* проведено исследование результатов лечения 36 женщин, больных хроническим вульвовагинальным кандидозом: флуконазол + иммуномодулирующая терапия препаратом рекомбинантного интерлейкина-2 (Ронколейкин®). *Результаты.* Установлено, что комплексная терапия больных ХВБК с применением системного антимикотика (Флуконазол) и иммуномодулятора (Ронколейкин) ведет к клинико-микробиологической санации (выявленной через один месяц после окончания лечения) у 89,9% больных. При этом происходило увеличение концентрации Т-лимфоцитов хелперов, сопровождающееся более чем двукратным увеличением соотношения CD4+/CD8+, полутора-трехкратным увеличением количества естественных киллеров и активированных лимфоцитов и семикратным увеличением лимфоцитов, имеющих мембранный рецептор IL-2, на фоне выраженной активации макрофагов и увеличением концентрации IL-1β на 180%, IL-6 – на 610% и IFNγ – на 430%.

**I.O. Borovikov, I.I. Kutsenko, E.R. Rubinina, C.I. Gorring, E.E. Gerasimenko**  
Kuban State Medical University, Krasnodar

## Immunocorrectors in therapy of chronic vulvovaginal candidiasis

**Borovikov Igor Olegovich / bio2302@mail.ru**

**Key words:** recurrent vulvovaginal candidiasis, antimicrobial, immunotrops therapy, rIL2.

**Summary.** The state of local immunity of cervical mucous membrane in women with chronic vulvovaginal candidiasis (CVVC) has been investigated. A new complex pathogenetically grounded method of treatment of CVVC with the use of cytokinotherapy is proposed. *Objective.* Study of the role of violations of local immunity in immunopathogenesis of chronic vulvovaginal candidiasis, development of etiopathogenetic grounded their therapy and determination of its 5 clinical-microbiological and immunological efficacies. *Subject and methods.* The study of the results of treatment of 36 women, patients with chronic vulvovaginal candidiasis: Fluconazole + immunomodulating therapy with the drug recombinant interleukin-2 (Ronkoleukin®). *Results.* It was established that the complex therapy of patients with CVVC with the use of systemic antimicrobial (Fluconazole) and Immunomodulator (Ronkoleukin) leads to clinical-microbiological sanitation (revealed 1 month after the end of treatment) in 89.9% of patients. In this case there was an increase in the concentration of T-helper, accompanied by more than two-fold increase in the ratio of CD4+/CD8+, a half-threefold increase in the number of natural killers and activated lymphocytes and seven times Increase in lymphocytes having a membrane receptor IL-2, against the backdrop of pronounced activation of macrophages and increased concentration of IL-1β – 180%, IL-6 – 610% and IFNγ – 430%.

### Введение

Вульвовагинальный (урогенитальный) кандидоз (ВБК) остается одной из важнейших проблем в акушерстве

и гинекологии. Необычайно широкая распространенность заболевания (по данным различных исследователей, от 20 до 80% женщин), разнообразные

варианты грибов рода *Candida*, индуцирование развития хронических воспалительных процессов во влагалище, часто с нарушением микробных ассо-

циаций и присоединением патогенной микрофлоры, устойчивость ВВК к терапии и длительное течение заставляют многих исследователей обращать внимание на причины, приводящие к развитию кандидной инфекции и обуславливающие ее существование [2, 4]. Следует также отметить, что хронизация вагинального кандидоза развивается на фоне различного происхождения вторичных системных, или чаще местных, дисфункций иммунной системы, приводящих к изменению цитокинового спектра, а также клеточного состава и функциональной активности фагоцитов слизистой влагалища [1, 2]. Механизмы резистентности и сааногенеза при данной инфекции изучены недостаточно [3-5].

В последнее время значительное внимание уделяется изучению локальных систем иммунитета, в частности, иммунитета слизистых [6, 7]. Но все же к настоящему времени имеется выраженный дефицит и разноречивость информации о функционировании и регуляции местной иммунной системы слизистых мочевого тракта в условиях нормы и патологии, ее участия и роли в механизмах резистентности, длительной бессимптомной персистенции возбудителя, активации инфекционного процесса, сааногенеза, повреждения и репарации тканей.

Клиническая эффективность лечения урогенитальных кандидозов (особенно рецидивирующих) с применением современных этиотропных препаратов с учетом чувствительности возбудителя составляет, по официальным литературным данным, 65-80% [6, 8, 9], что послужило основанием для широкого применения неспецифических иммуномодуляторов [9-11]. Включение в комплекс лечебных мероприятий иммунопрепаратов несколько повысило эффективность терапии, однако не решило проблемы полностью [12, 13].

Это связано с отсутствием принципов дифференцированного направленного назначения иммуномодуляторов, подбор которых проводится, в основном, эмпирически, а также с ограни-

ченностью представлений о реакции местных иммунных механизмов слизистых мочевого тракта на эти воздействия.

**Цель исследования** – изучить роль нарушений местного иммунитета в иммунопатогенезе хронических вульвовагинальных кандидозов, разработать этиопатогенетически обоснованную их терапию и определить ее клинико-микробиологическую и иммунологическую эффективность.

#### Материал и методы

Обследовано 62 женщины – 36 пациенток с хроническим вульвовагинальным кандидозом, получивших предлагаемую комплексную (этиотропная + иммуномодулирующая) терапию, 26 – контрольная группа условно здоровых женщин.

Вульвовагинальный кандидоз диагностировался на основании клиники и микробиологического (цитологического и культурального) исследования. Исследование популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови проводилось методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител (МКА) Caltag Laboratories (USA). Для исследования местного иммунитета была разработана методика выделения и специфической идентификации иммунокомпетентных клеток с использованием вышеуказанных МКА. Цитохимические исследования макрофагов слизистой уретры и цервикального канала – кислой фосфатазы (КФ), миелопероксидазы (МПО) и неспецифической эстеразы (НЭ) – проводили с целью определения их активации в условиях патологического процесса и воздействия иммуномодуляторов. Регистрацию активности ферментов макрофагов и лимфоцитов проводили по среднему цитохимическому показателю (СЦП) визуальным полукочественным методом по Astalduy et Verga. Концентрацию цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) в сыворотке крови и слизи определяли твердофазным иммуноферментным методом с использованием

наборов и по прилагаемым методикам (Caltag Laboratories, USA).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась методом вариационной статистики с использованием пакетов прикладных программ Statistica 7.0 и SPSS 16.0 for Windows с определением непараметрических критериев  $\chi^2$  и Фишера (F) с поправкой Йетса по качественным признакам и критерия Манна – Уитни и Стьюдента (t) для количественных признаков. Различия между исследуемыми группами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

#### Результаты и обсуждение

Все больные ХВБК до обращения к нам получали традиционную терапию, включающую применение современных местных и пероральных антимикотиков в терапевтических дозировках с различными иммуномодуляторами (интерфероны и интерферогены). У 32 пациенток (88,9%) обнаружен дрожжевой грибок рода *Candida albicans*, у четырех – *Candida tropicalis* и *Candida glabrata* (11,1%).

Проведенные исследования показали, что при ХВБК выраженных изменений в состоянии системного иммунитета по сравнению с контрольной группой практически не отмечается. Так, в анализах популяционного и субпопуляционного состава лимфоидных клеток цервикального канала обнаружено почти одной степени выраженности достоверное ( $P < 0,01$ ) снижение, по сравнению с контролем, процентного содержания CD4+ при сохраненной концентрации Т-киллеров. В связи с этим соотношение CD4+/CD8+ также снижалось ( $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ). Резко увеличивалось содержание активированных лимфоцитов CD69+ и естественных клеток киллеров ( $P < 0,05$ ). Патогномичным для данного вида инфекции явилось постоянно обнаруживаемое достоверное снижение ( $P < 0,01$ ) количества клеток, несущих мембранный рецептор к IL-2 (CD25+).

При этом абсолютно ожидаемым явилось увеличение ( $P < 0,05$ ) содержания В-лимфоцитов. У женщин с ХВБК выявляемая активность ферментов

в макрофагах цервика-вагинальной зоны имеет выраженную тенденцию к увеличению по сравнению со здоровыми людьми. Но, если активность МПО увеличивалась всего лишь на 11-15% ( $P < 0,05$ ), то активность КФ – на 24-37% ( $P < 0,05$ ;  $P > 0,01$ ), а НЭ – на 43-53% ( $P < 0,01$ ).

Таким образом, проведенные исследования показали, что определение цитохимически выявляемой активности ферментов в макрофагах цервика-вагинальной зоны отражает, во-первых, наличие, развитие и отчасти степень выраженности воспалительного процесса, индуцированного инвазией инфекционного агента, и, во-вторых, является легко воспроизводимым косвенным критерием активации иммунной системы в условиях направленных терапевтических воздействий.

При развитии ХВБК синтез провоспалительных цитокинов резко повышался ( $P < 0,001$ ) и составил, в среднем, 268%. Что касается концентрации в цервика-вагинальной слизи  $IFN\gamma$ , то, хотя у зараженных женщин и отмечался прирост активности данного цитокина в два раза, полученные данные чаще всего не выходили за пределы физиологических колебаний.

Руководствуясь тем, что при традиционной терапии с использованием препаратов интерферона и интерферонов реакции местной иммунной системы слизистой, тестируемые по концентрации цитокинов в цервикальной слизи и по другим тестам, оказались недостаточными, а также тем, что основные дисфункциональные изменения, зарегистрированные при ВБК у женщин, заключались в снижении IL-2-зависимых ее функций, мы предлагаем новый комплексный патогенетически обоснованный метод лечения рецидивов, включающий топическую иммуномодулирующую терапию препаратом интерлейкина-2 – Ронколейкином (500000 ЕД трехкратно подкожно в область передней брюшной стенки, на 2 см отступив от *spina iliaca anterior superior* с интервалом 72 часа) и этиотропную терапию флуконазолом 150 мг №3 (1-й, 4-й и 7-й дни терапии).

После проведения предлагаемой нами терапии клинко-микробиологическая санация, выявленная через один месяц после окончания лечения, наблюдалась у 89,9% больных с ХВБК. У одной пациентки, несмотря на проведенное лечение, при микробиологическом исследовании обнаружен тот же штамм кандиды, что и до лечения, – *Candida glabrata*. Данный факт говорит о малой чувствительности выделенного штамма к современным антимикотикам, что и подтверждено при определении чувствительности *in vitro*.

Исследование параметров системного и местного иммунитета в условиях предлагаемой терапии проводили до начала, на следующий день после окончания курса предлагаемой терапии и через месяц после окончания курса, когда уже имелись результаты клинко-микробиологического обследования.

Выявлено, что концентрация  $IFN\gamma$  в сыворотке крови больных женщин не отличается от контрольных значений. После окончания курса предлагаемой терапии концентрация  $IFN\gamma$  увеличилась более чем в два раза в сравнении с параметрами здоровых женщин и с исходными данными, но при этом средние значения не выходили за пределы физиологической нормы. Таким образом, показано, что при топическом введении Ронколейкина системные интерферогенные эффекты все же имели место, но были минимальными. Через месяц после окончания успешного лечения концентрация  $IFN\gamma$  в сыворотке крови не отличалась от значений здоровых женщин. При этом вариабельность индивидуальных значений стала значительно меньшей, что свидетельствует об истинности полученных результатов.

Что касается концентрации иммуноглобулинов основных классов в сыворотке крови больных с рецидивами заболевания, то их уровень на всех сроках наблюдения достоверно не отличался от параметров контрольной группы.

При анализе динамики популяционного и субпопуляционного состава лимфоидных клеток слизистой

цервика-вагинальной зоны у больных с рецидивами ВБК в процессе предлагаемой терапии показано, что до лечения у них отмечена выраженная дисфункция иммунной системы, заключающаяся в резком снижении  $CD4+$  ( $P < 0,01$ ), причем более глубоком, чем средние значения у пациентов второй и третьей групп, достоверном снижении  $CD4+/CD8+$  ( $P < 0,001$ ) и  $CD25+$  ( $P < 0,05$ ), сопровождающаяся повышением концентрации  $CD19+$ ,  $CD16+CD56+A$  и  $CD69+$  ( $P < 0,05$ ). Причем повышение количества В-лимфоцитов в слизистой коррелировало ( $R=0,79$ ) с увеличением концентрации IgA. Сниженное количество лимфоцитов, несущих мембранный рецептор к IL-2, с нашей точки зрения, является патогномичным для данного состояния, несмотря на некоторое увеличение концентрации активированных лимфоцитов и NK-клеток и обуславливает топическое применение Ронколейкина.

В условиях адекватной топической иммуномодулирующей терапии в сочетании с Флуконазолом происходило достоверное, более чем в два раза, увеличение концентрации Т-лимфоцитов хелперов, сопровождающееся более чем двукратным увеличением соотношения  $CD4+/CD8+$  ( $P < 0,001$ ), полутора-трехкратным увеличением количества естественных киллеров и активированных лимфоцитов ( $P < 0,001$ ) и, что самое главное, семикратным увеличением лимфоцитов, имеющих мембранный рецептор IL-2.

Через месяц после окончания курса предлагаемой терапии практически все параметры возвращались в пределы физиологической нормы. Более того, количество  $CD25+$  достоверно ( $P < 0,01$ ), а  $CD4+$  недостоверно ( $P < 0,05$ ) превышали контрольные значения (табл. 1). Данный факт можно рассматривать не только как санацию от кандиды инфекции, но и как лучшее, по сравнению с контрольной группой, состояние местной иммунной системы слизистой урогенитальной зоны.

Активность ферментов в макрофагах слизистой цервика-вагинальной зоны у женщин с ХВБК до лечения зависела

**Таблица 1.**

**Популяционный и субпопуляционный состав (%) лимфоидных клеток слизистой цервико-вагинальной зоны у женщин, больных ХВБК, в процессе терапии (X±x; P)\***

Время наблюдения	Группы	Показатели							
		CD3+	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+	CD19+	CD25+	CD69+	CD16+/CD56+A
		%	%	%		%	%	%	%
До начала терапии	контроль (n=26)	74.2±5.8	26.1±1.8	47.1±4.3	0.49±0.03	19.1±1.1	5.4±0.6	6.1±0.6	11.5±0.4
	ХВБК (n=36)	57.5±5.8	18.1±1.9**	39.1±4.8	0.39±0.03***	28.3±2.3*	3.2±0.3*	10.1±0.8*	15.2±0.9*
После окончания терапии	ХВБК (n=36)	78.2±4.9	29.2±2.8*** *	41.1±4.8	0.77±0.06*** *	16.9±1.4*	21.6±2.9***	33.0±4.5***	25.4±2.5***
Через один месяц после окончания терапии	ХВБК (n=36)	73.6±5.3	27.4±2.4**	44.8±3.9	0.68±0.05*	17.2±1.5*	7.4±0.6*** **	5.1±0.4***	11.9±0.7

**Таблица 2.**

**Активность ферментов в макрофагах слизистой цервико-вагинальной зоны у женщин, больных ХВБК в процессе терапии (X±x; P)\***

Время наблюдения	Группы	Показатели		
		Миелопероксидаза (МПО)	Кислая фосфатаза (КФ)	Неспецифическая эстераза (НЭ)
		СЦП (y.e.)	СЦП (y.e.)	СЦП (y.e.)
До начала терапии	контроль (n=26)	143±12	119±7	91±6
	ХВБК (n=36)	129±8	152±10	161±9***
После окончания терапии	ХВБК (n=36)	232±17***	271±14***	282±11***
Через один месяц после окончания терапии	ХВБК (n=36)	141±10	118±7*	69±6***

**Таблица 3.**

**Цитокиновый спектр цервико-вагинальной слизи у больных ХВБК в процессе терапии (X±x; P)\***

Время наблюдения	Группы	Показатели			
		IL-1β	IL-6	γIFN	TNFα
		pg/ml	pg/ml	U/ml	pg/ml
До начала терапии	контроль (n=26)	249±68	30.1±7.9	4.6±1.1	8.1±1.6
	ХВБК (n=36)	621±102**	58.7±12.5*	49.9±7.3*	99.5±21.1***
После окончания	ХВБК (n=36)	2080±170***	470.2±59.1***	67.4±9.2***	101.9±22.8***
Через один месяц после окончания терапии	ХВБК (n=36)	146±20***	20.4±4.1***	3.8±0.5*	5.9±1.8***

от суммарной цитокиновой стимуляции гена индуктора каждого маркерного фермента (табл. 2). Так, активность КФ и МПО в макрофагах практически не отличалась от контрольных цифр. В то же время выявляемая активность НЭ на этом сроке наблюдения на 78% превышала контрольные значения ( $P < 0,001$ ). После окончания курса терапии активность МПО была выше исходных параметров на 63%, КФ – на 74% и НЭ – на 84%.

Таким образом, под воздействием местного применения Ронколейкина и индуцированной его введением комплексной ауто- и паракринной каскадной цитокиновой реакции произошла выраженная активация макрофагов, что нашло отражение в увеличении выявляемости детектируемых ферментов. Через месяц после окончания терапии все изученные параметры не отличались от контрольных значений. Цитокино-

вый спектр цервико-вагинальной слизи у больных с ХВБК является отражением клинической картины, интенсивности воспалительного процесса и активности лимфоидно-макрофагальной местной иммунной системы (табл. 3).

Так, у этих больных отмечается меньшая по сравнению с исходной, зарегистрированной у больных второй и третьей групп, концентрация IL-1 $\beta$ , IL-6 и IFN $\gamma$ , что свидетельствует о недостаточной активации местной иммунной системы в условиях ее дисфункции. Процесс сопровождается хронической гиперпродукцией TNF $\alpha$ , что ведет к нарушению кровоснабжения в зоне воспаления и дистрофическим изменениям эпителиальных клеток слизистой. В условиях лечения с использованием предлагаемой терапии происходило увеличение концентрации IL-1 $\beta$  на 180%, IL-6 – на 610% и IFN $\gamma$  – на 430% ( $P < 0,001$ ). Концентрация TNF $\alpha$  при

этом практически не повышалась. К месячному сроку после окончания курса предлагаемой терапии цитокиновый спектр у реконвалесцентов не отличался от нормативных показателей. Более того, концентрация провоспалительных цитокинов в этот период у реконвалесцентов после рецидива ВБК, хотя и недостоверно, но была ниже аналогичных параметров группы относительно здоровых женщин.

Таким образом, предложен патогенетически обоснованный комплексный метод лечения ХВБК, включающий топическое введение препарата rIL2 и антимикотика (флуконазол), который способствует восстановлению нормальных функций местной иммунной системы слизистых урогенитальной зоны и созданию условий для клинического и микробиологического излечения с созданием нормального биоценоза мочеполовой системы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Вульвовагинальный кандидоз. Клиника, диагностика, принципы терапии. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2010;80.
  2. Серов В.Н., Тютюник В.Л. Вульвовагинальный кандидоз: особенности течения и принципы лечения. Фарматека. 2015;15(110):38-43.
  3. Ashman R., Bolitho E., Papadimitriou J. Patterns of resistance to *Candida albicans* in inbred mouse strains. *Immunol Cell Biol.* 2013;71(3):221-225.
  4. Роджерс К., Бердалл А. Рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз и причины его возникновения. Инфекции, передаваемые половым путем. 2010;3:22-27.
  5. Ashman R., Papadimitriou J. Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* infection. *Microbiol Rev.* 2015;59(4):646-672.
  6. Beno D., Mathews H. Growth inhibition of *Candida albicans* by interleukin-2-induced lymph node cells. *Cell Immunol.* 2010;128(1):89-100.
  7. Beno D., Stever A., Mathews H. Growth inhibition of *Candida albicans* hyphae by CD8+ lymphocytes. *J. Immunol.* 2015;154(10):5273-5281.
  8. Cenci E., Mencacci A., Spaccapelo R., Tonnetti L. T-helper cell type 1 (Th1)- and Th2-like responses are present in mice with gastric candidiasis, but protective immunity is associated with Th1 development. *J. Infect Dis.* 2015;71(5):1279-1288.
  9. Colon M., Toledo N., Valiente C., Rodriguez N. Antifungal and cytokine producing activities of CD8+ T lymphocytes from HIV-1 infected individuals. *Bol. Asoc. Med PR.* 2017;90(1):21-26.
  10. Gulay Z., Imir T. Anti-candidial activity of natural killer (NK) and lymphokine activated killer (LAK) lymphocytes in vitro. *Immunobiology.* 2016;5(2):220-230.
  11. Hisatsune T., Nishijima K., Minai Y., Kohyama M., Kamino-gawa S. Autoreactive CD8+ T cell clones producing immune suppressive lymphokines IL-10 and interferon. *Cell. Immunol.* 2014;54:181-192.
  12. Kretschmar M., Jung C., Fontagnier E., Quade B., Nichterlein T. Activated CD8+ T-cells are involved in elimination of *Candida albicans* from the livers of mice. *Mycoses.* 2017;40(1):241-246.
  13. Mardh P., Rodrigues A., Genç N. et al. Facts and myths on recurrent vulvovaginal candidosis – a review on epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, pathogenesis and therapy. *Int. J. of STD and AIDS.* 2012;13:522-539.
- Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов. Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в предоставленных материалах и методах.