

УДК 616.594.171.2

**И.О. БОРОВИКОВ, И.И. КУЦЕНКО, Х.И. ГОРРИНГ, Э.Р. РУБИНИНА**

Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар

## Новые подходы к комплексной терапии хронических вульвовагинальных кандидозов

**Боровиков Игорь Олегович** — доктор медицинских наук, доцент кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии,

Адрес: 350063, г. Краснодар, ул. Седина, д. 4, тел. +7-909-443-77-66, e-mail: bio2302@mail.ru

*В статье рассмотрен опыт лечения пациенток с хроническим вульвовагинальным кандидозом (ХВБК). Выявлен вариант комплексной терапии антимикотиками совместно с рекомбинантным интерлейкином-2 (rIL-2) с оценкой клинико-микробиологической и иммунологической эффективности.*

**Цель исследования:** изучить роль нарушений местного иммунитета в иммунопатогенезе хронических вульвовагинальных кандидозов, разработать адекватную, этиопатогенетически обоснованную терапию и определить ее клиническую и иммунологическую эффективность.

**Материал и методы.** Проведено открытое рандомизированное исследование результатов лечения 64 женщин с ХВБК, разделенных на две группы: I группа (n=32) — антимикотическая терапия препаратом флуконазол перорально 150 мг №3; II группа (n=32) — флуконазол перорально 150 мг №3 + топическая иммуномодулирующая терапия препаратом рекомбинантного интерлейкина-2 (rIL-2) – «Ронколейкин®» 1000000 ЕД №3. Использовались: прямая микроскопия, измерение вагинального pH, культуральный метод. Проводились исследования популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, цитохимические исследования макрофагов слизистой цервикального канала, а также определяли концентрацию цитокинов в цервиковагинальной слизи.

**Результаты.** Выявлена сравнимая высокая клиническая и микробиологическая эффективность ХВБК с использованием топической иммуномодулирующей терапии.

**Ключевые слова:** хронический вульвовагинальный кандидоз, антимикотики, иммуномодуляторы, флуконазол, рекомбинантный интерлейкин-2

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов

**И.О. БОРОВИКОВ, И.И. КУЦЕНКО, Х.И. ГОРРИНГ, Э.Р. РУБИНИНА**

Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар

## New approaches to integrated treatment of chronic vulvovaginal candidiasis

**Borovikov I.O.** — MD, PhD, Department of Obstetrics and Gynecology

Address: Sedina str. 4., Krasnodar, 350063, tel. +7-909-443-77-66, e-mail: bio2302@gmail.com

**Summary:** The article examines the experience of treating patients with chronic vulvovaginal candidiasis (CVVC). The variant of complex therapy with antimicrobials in conjunction with recombinant interleukin-2 (rIL-2) with an assessment of clinical-microbiological and immunological effectiveness has been revealed.

**The objective:** to study the role of local immunity disorders in the immunopathogenesis of chronic vulvovaginal candidiasis, to develop adequate, etiopathogenetically sound therapy and to determine its clinical and immunological effectiveness.

**Material and methods.** An open randomized study of the results of treatment of 64 women with CVVC divided into two groups was conducted: group I (n=32) – antimycotic therapy with the drug fluconazole orally 150 mg No.3; II group (n=32) - fluconazole orally 150 mg No.3 - topical immunomodulatory therapy with recombinant interleukin-2 (rIL-2) – «Ronkoleukin®» 1000000 ED No.3. Used: direct microscopy, measurement of vaginal pH, cultural method. Studies were carried out on the population and subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes, cytochemical studies of macrophages of the cervical mucosa, and determined the concentration of cytokines in cervicovaginal mucus.

**Results.** Comparable high clinical and microbiological efficacy of CVVC using topic immunomodulatory therapy revealed.

**Key words:** chronic vulvovaginal candidiasis, antimicrobials, immunomodulators, fluconazole, recombinant interleukin-2.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests

Проблема вульвовагинального (урогенитально-го) кандидоза (ВВК) в настоящее время является одной из важнейших в акушерстве и гинекологии. Широкая распространенность заболевания (по данным различных исследователей от 20 до 80% женщин), увеличение количества non-albicans штаммов грибов рода *Candida*, частое рецидивирование с нарушением микробиоценоза, устойчивость ВВК к терапии заставляют медицинское сообщество обращать внимание на причины, приводящие к развитию кандидной инфекции и обуславливающие ее существование [1, 2]. Следует также отметить, что хронизация вагинального кандидоза развивается на фоне вторичных (чаще локальных) дисфункций иммунной системы [2-5]. В последнее время значительное внимание уделяется изучению локальных подсистем иммунитета, в частности иммунитету слизистой вульвовагинальной зоны [2, 6, 7]. До сих пор наблюдается разноречивость информации о функционировании и регуляции иммунитета слизистых этой зоны, ее участии в механизмах гомеостазе, обуславливающие санацию данной области или, наоборот, хронизацию процесса. Клиническая эффективность лечения вульвовагинальных кандидозов (особенно рецидивирующих) с применением современных этиотропных препаратов составляет по официальным литературным данным не более 60-65% [3, 6-8], что способствует широкому применению неспецифических иммуностимуляторов [1, 9, 10, 11]. Применение разнообразных иммунопрепаратов у некоторых пациенток несколько повышало эффективность терапии, но, в большинстве случаев, было или неэффективно, или даже способствовало хронизации процесса [3, 10-13], что, в первую очередь, связано с отсутствием принципов патогенетического направленного иммуномодулирующего воздействия, бессистемным, эмпирическим подбором иммуномодулирующих препаратов, и ограниченностью представлений о реакции местных иммунных механизмов слизистых вульвовагинальной зоны на их воздействия [5, 13-14].

**Цель исследования:** изучить роль нарушений местного иммунитета в иммунопатогенезе хронических вульвовагинальных кандидозов у женщин, разработать адекватную, этиопатогенетически обоснованную их терапию и определить ее клиническую и иммунологическую эффективность.

**Материал и методы.** Исследования проводились на кафедре акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, в женских консультациях г. Краснодара (время проведения исследования с 08.2017 г. по 07.2019 г.). Проведено открытое рандомизированное исследование, обследовано 64 женщины с хроническим

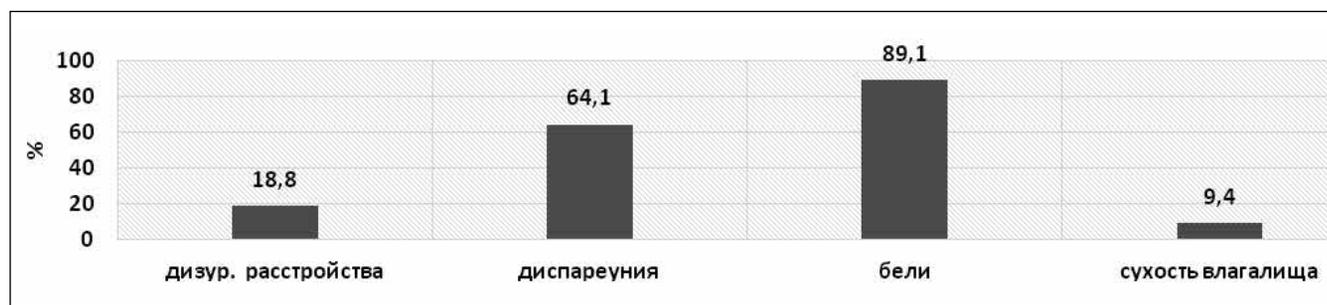
вульвовагинальным кандидозом, которые в зависимости от получаемой терапии были разделены на две группы: I группа (n=32) – антимикотическая терапия препаратом флуконазол перорально 150 мг №3 (1, 4 и 7 дни); II группа (n=32) – флуконазол перорально 150 мг №3 + топическая иммуномодулирующая терапия препаратом рекомбинантного интерлейкина-2 (rIL-2) – «Ронколейкин®», который вводился подкожно в переднюю брюшную стенку в две точки на 3 см медиальнее *spina iliaca anterior superior* с учетом лимфооттока (1,0 мг (1000000 ЕД) по 0,5 мл трижды с интервалом 72 часа) (антимикотическую терапию начинали через 24 часа после первого п/к введения rIL-2); контрольная группа условно здоровых женщин (n=26). Клиническая и микробиологическая эффективность лечения оценивалась через 1, 6 и 12 месяцев после окончания терапии. Анализ клинико-микробиологической эффективности проводился на основании: уменьшении/исчезновении симптомов заболевания; состоянии микробиоценоза влагалища; наличия рецидивов заболевания при годичном мониторинге. Улучшение определяли, как значительное (на  $\geq 50\%$ ) уменьшение тяжести исходных симптомов. Кандидная инфекция определялась на основании клиники и микробиологического (цитологического и культурального) исследования. Инфицированность различными видами *Candida* spp. диагностировалась методами прямой микроскопии и посевом с выделением чистой культуры и окончательной идентификацией возбудителя (система «API 20 C Aux», BioMerieux, Франция). Проводились исследования популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, цитохимические исследования макрофагов слизистой цервикального канала, а также определяли концентрацию цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) в цервикагоинальной слизи.

Статистический анализ полученных результатов проводился в программе SPSS Statistics 22.0. Обработка результатов исследований проводилась методом вариационной статистики с определением критерия Фишера (F) для оценки непараметрических показателей групп малых выборок и критерием Стьюдента (t) для независимых групп.

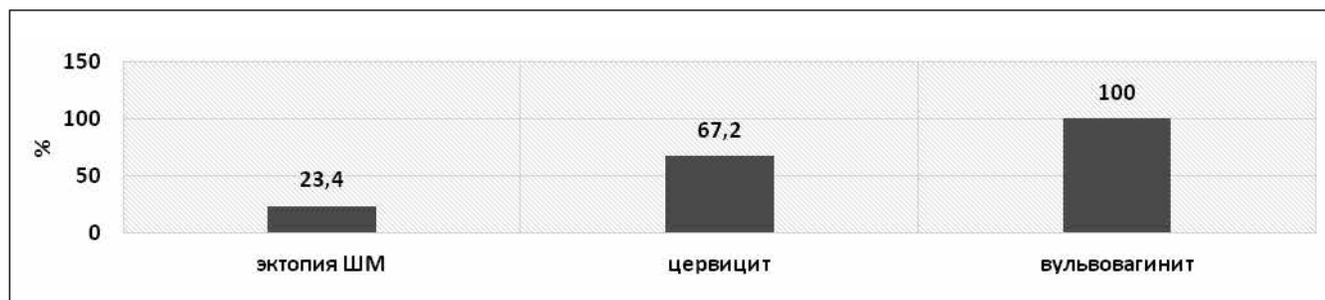
### Результаты исследования

Большинство пациенток из представленной на исследование выборки имели характерные для ХВВК клинические проявления. Основными жалобами являлись выделения из половых путей «молочно-творожистого» характера с характерным запахом, ощущения зуда, жжения, болезненности полового акта (рис. 1). Объективное исследование показывало изменения слизистых, характерные для кан-

**Рисунок 1. Субъективная симптоматика пациенток с ХВВК / Subjective symptoms of patients with CVVC (n=64)**



**Рисунок 2. Субъективная симптоматика пациенток с ХВБК / Objective symptoms of patients with CVVC (n=64)**



дидозного вульвовагинита (отечность, гиперемия, иногда изъязвления и трещины в области женских половых органов), мацерация половых губ (рис. 2). Показатели рН-метрии вагинального отделяемого были в пределах 3,6-5,9 (в среднем  $4,6 \pm 0,2$ ).

Микробиологическое исследование исследуемой группы пациенток с ХВБК показало явное преобладание штаммов гриба *Candida albicans* – самостоятельно и в ассоциациях в 79,7%. Среди non-*albicans* штаммов выявлялись наиболее часто *C. glabrata* (12,5%) и *C. parapsilosis* (6,3%), также встречались *C. tropicalis* и *C. krusei* – по 3,1% соответственно. Всего самостоятельно и в ассоциациях с *Candida albicans* штаммы non-*albicans* встречались у 24,6% исследуемых женщин (табл. 1).

Штаммы *C. albicans*, в соответствии с критериями NCCLS, были наиболее чувствительными к флуконазолу (90,2%). Чувствительность *C. albicans* к клотримазолу составила 43,1%, кетоконазолу и натамицину – 56,9 и 23,5% соответственно. *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* и *C. krusei* проявили себя более устойчиво к наиболее популярным противогрибковым препаратам, но, учитывая их малую выборку, результаты считаются нерепрезентативными (табл. 2).

Пациентки с ХВБК до проведения данного исследования получали разнообразную с применением местных и системных противогрибковых препаратов в терапевтических дозировках, в том числе и с различными неспецифическими иммуномодуляторами.

Анализ популяционного и субпопуляционного состава лимфоидных клеток женщин с ХВБК показал снижение по сравнению с контролем уровня CD3+ и CD4+ с достоверным ( $P < 0,05$ ) понижением индекса CD4+/CD8+. Также особенным системным эффектом при поражении грибковой инфекцией явилось уменьшение в периферической крови концентрации лимфоцитов, несущих мембранный рецептор к IL-2 (CD25+) ( $P < 0,05$ ) и достоверное ( $P < 0,01$ ) увеличение концентрации HLA-DR+ лимфоцитов, что подтверждает факт снижения при ХВБК количества лимфоцитов с Th1 потенцией и активация Th2-поляризованных лимфоцитов. Активность миелопероксидазы (МПО) цервиковагинальной зоны, являющейся один из компонентов бактерицидной системы макрофагов, при ХВБК была на 1/3 ( $P < 0,05$ ) ниже, чем в группе контроля, а кислой фосфатазы (КФ) – маркерного фермента лизосом макрофагов, практически не отличалась от контроля. При этом активность неспецифической эстеразы (НЭ) – маркер субактивации макрофагов, находилась на достоверно ( $P < 0,01$ ) более высоком уровне (рис. 3). Показатели локального иммунитета цервиковагинальной зоны при ХВБК не всегда отличались от группы здоровых женщин: концентрация регуляторного цитокина IL-1 $\beta$  в цервиковагинальной слизи больных ХВБК была в 4,8 раз ниже, чем в группе иммунологического контроля, но эта разница не была достоверной ( $P > 0,05$ ) из-за высокого коэффициента вариации; при этом провоспалительные цитокины IL-8 и TNF $\alpha$  имели тенден-

**Таблица 1. Микробиологическая характеристика пациенток с ХВБК (n=64)  
Table 1. Microbiological characteristics of patients with CVVC (n=64)**

	I гр. (n=32)	II гр. (n=32)
штамм <i>Candida</i> spp. (n)		
<i>C. albicans</i>	26	25
<i>C. parapsilosis</i>	-	1
<i>C. glabrata</i>	1	2
<i>C. tropicalis</i>	1	1
<i>C. krusei</i>	2	-
<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i>	3	2
<i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i>	2	-
<i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	1	-

**Таблица 2. Чувствительность Candida к антимикотикам (критерии NCCLS) (%)**  
**Table 2. Candida sensitivity to antimicrobials (NCCLS criteria) (%)**

	Антимикотик			
	Клотримазол	Флуконазол	Кетоконазол	Натамицин
C. albicans (n=51)	43,1	90,2	56,9	23,5
C. glabrata (n=8)	37,5	75,0	62,5	37,5
C. tropicalis (n=3)	33,3	100	66,7	-
C. parapsilosis (n=3)	66,7	66,7	33,3	-
C. krusei (n=2)	100	100	50,0	50,0

цию ( $P > 0,05$ ) к повышению, а концентрация IL-4 при наличии ХВБК в 2,2 раза превышала данный показатель контроля, но и эти различия также не являлись достоверными (рис. 4).

Проведенные исследования показали, что основные дисфункциональные изменения, зарегистрированные при ХВБК у женщин, заключались в снижении IL-2-зависимых ее функций. В связи с данным фактом, был предложен новый комплексный, патогенетически обоснованный метод лечения ХВБК с топической иммуномодулирующей терапией препаратом интерлейкина-2 (Ронколейкин®) и этиотропной терапией флуконазолом (с учетом чувствительности по критериям NCCLS) по схеме 150 мг трижды на 1, 4 и 7 дни (II группа).

После проведения предлагаемой нами терапии микробиологическая санация в I группе, выявленная через 1 месяц после окончания лечения, наблюдалась у 71,9% пациенток, тогда как во II группе она составила 93,8% (у двух пациенток, несмотря на проведенное лечение, при микробиологическом исследовании обнаружены те же штаммы кандиды, что и до лечения – C. glabrata и C. albicans) (рис. 5).

На полугодовом сроке различия между группами достигли 21,8% (90,6 против 68,8%) и в последую-

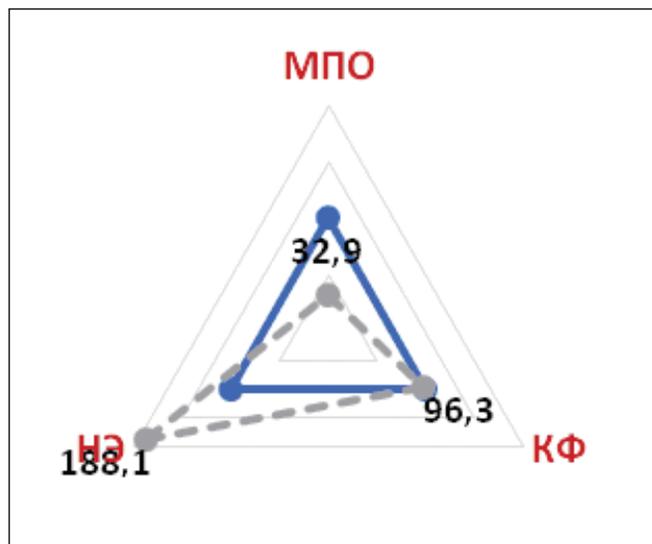
щие 6 месяцев оставались на том же уровне. Таким образом, микробиологическая эффективность лечения флуконазолом (I группа) оказалась достаточно высокой, но, при использовании предлагаемой топической иммуномодуляции rIL-2, она достигла практически максимальных результатов.

Частота клинического излечения через 1 месяц после окончания терапии в исследуемых I группе составила 81,3%, во II группе – 90,6%, улучшение в данных группах зафиксировали, соответственно, 9,4% пациенток I и 6,3% – II группы (рис. 6). Через 6 месяцев полное отсутствие симптоматики ВБК (излечение) зафиксировали 68,8% женщин I группы и 87,5% – II. Через 12 месяцев наблюдения сохранилась аналогичная тенденция: в I группе рецидивов ВБК выявлено 34,4% соответственно, во II группе – 15,6%.

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 клинико-микробиологического обследования. При анализе динамики популяционного и субпопуляционного состава лимфоидных клеток слизистой

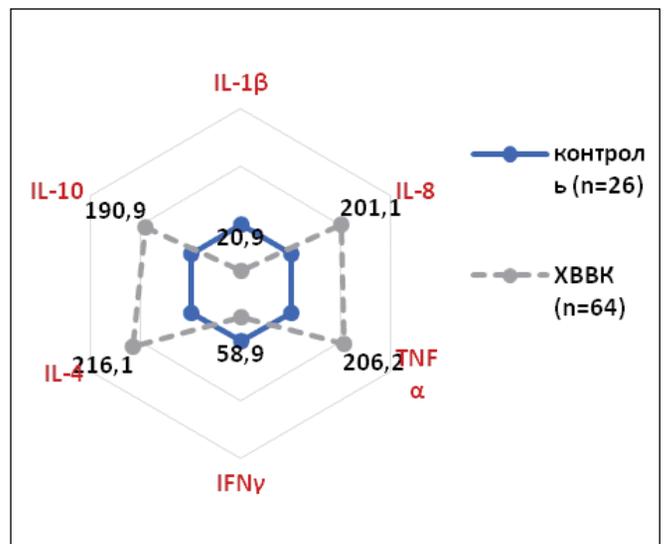
**Рисунок 3. Ферменты (СЦП) макрофагов цервикалоагинальной зоны (%)**

**Figure 3. Macrophages enzymes (WCI) of the cervicovaginal zone (%)**

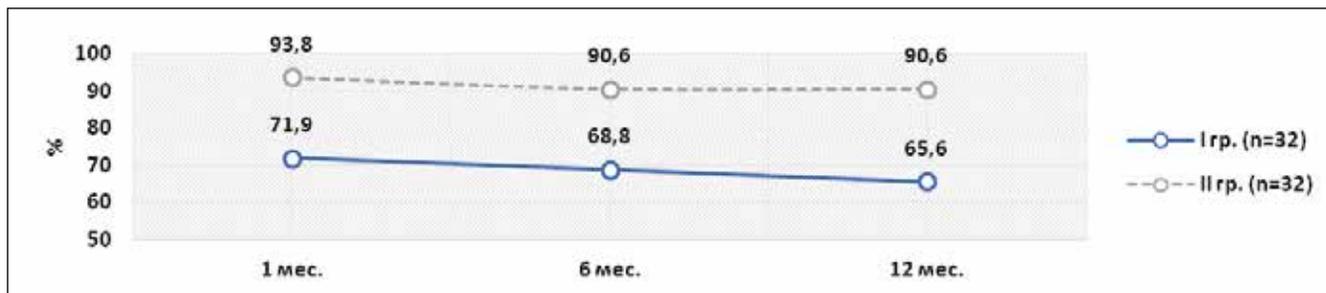


**Рисунок 4. Концентрация цитокинов цервикалоагинальной слизи (%)**

**Figure 4. Cervical mucus cytokines concentration (%)**



**Рисунок 5. Микробиологическая санация при ХВБК**  
**Figure 5. Microbiological CVVC sanitation**



цервико-вагинальной зоны у больных с ХВБК в процессе предлагаемой терапии показано, что до лечения у них отмечена дисфункция иммунной системы, которая нивелировалась топическим применением rIL-2. Под воздействием местного применения rIL-2 и индуцированной его введением комплексной каскадной цитокиновой реакции произошла активация макрофагов, что нашло отражение в увеличении выявляемости детектируемых ферментов.

В условиях лечения с использованием предлагаемой терапии происходило увеличение (в 4-6 раз) концентрации основных провоспалительных цитокинов, концентрация фактора некроза опухолей (TNF $\alpha$ ) при этом практически не повышалась. Через 1 месяц 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.

Из всего вышеперечисленного можно сделать следующие выводы:

1. При ХВБК имеют место дисфункциональные изменения со стороны местной иммунной системы слизистой вульвовагинальной зоны.

2. При лечении ХВБК с использованием традиционной терапии отмечены рецидивы заболевания (31,4 $\pm$ 3,2%), обусловленные местной дисфункцией иммунной системы, приведшей к секвестрации живых кандид в очагах с низкой проницаемостью для антибиотиков и недостаточной активацией систем элиминации данного патогена.

3. Предложен патогенетически обоснованный комплексный метод лечения рецидивирующего ВБК у женщин, включающий применение Ронколейкина® и антимикотического препарата – флуконазол. Клинико-микробиологическая эффективность лечения хронического вульвовагинального кандидоза предлагаемым методом составила до 90% с восстановлением нормальных функций местной иммунной системы слизистых вульвовагинальной зоны.

**Боровиков И.О.**

<https://orcid.org/0000-0001-8576-1359>

**Куценко И.И.**

<https://orcid.org/0000-0003-0938-8286>

**Горринг Х.И.**

<https://orcid.org/0000-0002-4039-5700>

**Рубинина Э.Р.**

<https://orcid.org/0000-0002-7599-2257>

**Бетмен С.К.**

<https://orcid.org/0000-0002-1790-444X>

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Белянин В.Л. Особенности завязывания инфекционного процесса, вызываемого *Candida albicans* // Мед. журн. России. — 2008. — №1-2. — С. 68-70.
2. Сергеев А.Ю. Иммуитет при кандидозе // Иммунопатология, аллергология и инфектология. — 2009. — №1. — С. 91-99.
3. Анкирская А.С., Муравьева В.В. Микробиологическая характеристика инфекции влагалища, вызванной грибами рода *Candida* // Заболевания, передаваемые половым путем. — 2008. — №2. — С. 12-14.
4. Cenci E., Mencacci A. et al. 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 May 1 171:5 1279-88.
5. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Современные представления о вагинальном кандидозе // Рус. мед. журнал. — 2008. — №6. — С. 301-308.
6. Ashman R., Bolitho E., Papadimitriou J. Patterns of resistance to *Candida albicans* in inbred mouse strains // Immunol. Cell Biol. — 2013 Jun 71 (Pt 3): 221-5.
7. Ashman R., Papadimitriou J. Production and function of cytokines in natural and acquired immunity to *Candida albicans* infection // Microbiol. Rev. — 2015 Dec 59:4 646-72.
8. Beno D., Mathews H. Growth inhibition of *Candida albicans* by interleukin-2-induced lymph node cells // Cell Immunol. — 2010 Jun 128:1 89-100.
9. Colon M., Toledo N. et. al. Antifungal and cytokine producing activities of CD8+ T lymphocytes from HIV-1 infected individuals // Bol. Asoc. Med PR — 2008 Jan. 90:1-3 21-6.
10. Beno D., Stever A., Mathews H. Growth inhibition of *Candida albicans* hyphen by CD8+ lymphocytes // J. Immunol. — 2015 May 15 154:10 5273-81.
11. Gulay Z., Imir T. Anti-candidal activity of natural killer (NK) and lymphokine activated killer (LAK) lymphocytes in vitro // Immunobiology. — 2016 Jul. 195:2 220-30.
12. Hisatsune T., Nishijima K. et. al. Autoreactive CD8+ T cell clones producing immune suppressive lymphokines IL-10 and interferon // Cell. Immunol. — 2014. 154:181-192.
13. Klebanoff S. Antimicrobial mechanisms in neutrophilic polymorphonuclear leucocytes // Semin. Hematol. — 2015. — № 12.
14. Kretschmar M., Jung C. et. al. Activated CD8+ T cells are involved in elimination of *Candida albicans* from the livers of mice // Mycoses — 2017 Jan-Feb 40:1-241-6.