На правах рукописи

СЕМЁНОВА ИННА ВИКТОРОВНА

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНОГО КАНДИДОЗА

14.01.10 – кожные и венерические болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Екатеринбург– 2013

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:
доктор медицинских наук **Зиганшин Олег Раисович**

Научный консультант:
член-корреспондент РАМН,
доктор медицинских наук, профессор **Долгушин Илья Ильич**

Официальные оппоненты:
доктор медицинских наук,
заведующий научного экспериментально-лабораторного отдела
ФГБУ «Уральский научно-исследовательский
институт дерматовенерологии и иммунопатологии»
Минздрава России **Евстигнеева Наталья Петровна**

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры дерматовенерологии
ГБОУ ВПО «Казанский Государственный
медицинский университет» Минздрава России **Батыршина Светлана Васильевна**

Ведущая организация:
Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «27» декабря 2013 г. в 13.00 часов на заседании Диссертационного совета Д 208.129.01 при ФГБУ «УрНИИДВиИ» Минздрава России, по адресу: 620076, г. Екатеринбург, ул. Щербакова, 8, www.urniidvi.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «УрНИИДВиИ» Минздрава России по адресу: 620076, г. Екатеринбург, ул. Щербакова, 8

Автореферат размещен на официальном сайте ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации

Автореферат разослан 26 ноября 2013 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,
кандидат медицинских наук Куклин Игорь Александрович

Актуальность проблемы

Вульвовагинальный кандидоз, доля которого в структуре инфекционной патологии составляет 40,0-45,0 %, остается одной из важнейших проблем дерматовенерологии. Возрастающее значение дрожжеподобных грибов рода *Candida* в развитии воспалительных процессов урогенитального тракта, видовое многообразие (*C. albicans, non-albicans - C. glabrata, C. tropicalis, C. parapsilosis, C. krusei, C. famata),* вирулентность, обусловленная генотипической и фенотипической нестабильностью, формирование устойчивости к антимикотическим препаратам, недостаточный терапевтический эффект приводит к увеличению удельного веса длительно текущих, редидивирующих форм вульвовагинального кандидоза у женщин репродуктивного возраста (Кунгуров Н.В., 2005; Перламутров Ю.Н., 2009; Мирзабалаева А.К., 2009; Прилепская В.Н., 2010, Guzel A.B,2011, Jacquelini M., 2010, Stock, 2010).

Вопросы патогенеза урогенитального кандидоза до сих пор остаются предметом дискуссий. Несостоятельность иммунного контроля, характер состояния клеточных факторов резистентности репродуктивной системы определяют исход и являются причинами рецидивирования (Мальбахова Е.Т.,2009., Cura Gonzales I, 2011). Малочисленны данные об особенностях местного иммунитета и факторах неспецифической резистентности при инфицировании дрожжеподобными грибами рода *Candida*, мобилизующих резерв местного иммунитета, не изучено влияние ультразвуковой кавитации и топического индуктора интерферона на факторы врожденного иммунитета, но именно эти сведения могут явиться информационной основой о причинах рецидивов заболевания, сохранения воспалительного процесса после проведенной терапии.

Разработка алгоритмов обследования, способных выявить дисфункции иммунных факторов, возникших на фоне колонизации влагалища условно-патогенными дрожжеподобными грибами рода *Candida* представляется

актуальной научной задачей, побуждает к поиску новых альтернативных и/или адъювантных подходов (Овденко М.Б., 2006; Кира Е.Ф., 2009; Полянская И.Б, 2009; Chow O., 2010).

На сегодняшний день в терапии воспалительных заболеваний урогенитального тракта, наряду с этиотропными методами, используются физиотерапевтические воздействия (низкочастотная ультразвуковая кавитация) и топическая иммуномодулирующая терапия (Клименко И.Г., 2009; Летяева О.И., 2011; Обоскалова Т.А., 2012; Глухов Е.Ю., 2012; Зиганшина Т.А., 2012; Гизингер О.А., 2013; Serena T., 2009; Ueda H., 2009).

Экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о перспективности применения иммуномодулирующих препаратов для целенаправленной коррекции нарушений клеточного и гуморального иммунитета при рецидивирующем кандидозном вульвовагините как в виде монотерапии, так и в комплексе с системной, этиотопной терапией. Необходимо учитывать, что коррекция иммунных дисфункций иммунотропными препаратами возможна только при наличии соответствующих показаний, после проведенных иммунологических исследований (Федотов В.П., 2005; Кисина В.И., 2009; Перламутров Ю.Н., 2009).

Пристальное внимание исследователи обращают на роль бактерицидных продуктов, хроматина, выделяемого нейтрофильными гранулоцитами наружу, формируя нейтрофильные внеклеточные ловушки (*Neutrophil Extracellular Traps, NETs*, НВЛ), состоящие из нуклеиновых кислот, гранулированных пептидов и антимикробных молекул, с целью изоляции и уничтожения бактерий и грибов и понимания возможности нейтрофильных гранулоцитов и оценке ответных иммунных реакций, происходящих с их участием на локальном уровне (Долгушин И.И., 2008; Шишкова Ю.С., 2009; Шмагель К.В., 2011; Ярилин А.А., 2001; Brinkman V., 2004; Hong W., 2009; Remijsen Q., 2011).

Отсутствие данных о клинико-иммунологической эффективности комплексного применения этиотропной, иммуномодулирующей терапии и ультразвуковой кавитации при лечении хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза делает актуальным данное исследование.

Цель работы

Разработать комплексную терапию хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза, включающую этиотропное лечение и локальное воздействие ультразвуковой кавитации и топического индуктора интерферонов и оценить ее клинико-иммунологическую эффективность.

Задачи исследования

1. Изучить видовой состав условно-патогенных грибов рода *Candida* у пациенток с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом.
2. Выявить клинико-анамнестические и лабораторные особенности у пациенток с хроническими рецидивирующими вульвовагинитами, ассоциированными с условно-патогенными грибами *C. albicans*.
3. Оценить в сравнительном аспекте клинико-иммунологическую эффективность этиотропной терапии в монорежиме и в сочетании с ультразвуковыми кавитационными воздействиями и топическим индуктором интерферонов.
4. Исследовать показатели функционального состояния нейтрофильных гранулоцитов влагалищного отделяемого у пациенток с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом и оценить их динамику в процессе лечения при использовании различных терапевтических схем.
5. Оценить частоту развития рецидивов хронического вульвовагинального кандидоза через 6 месяцев после окончания комплексной терапии.

Положения, выносимые на защиту

1. Хронический рецидивирующий вульвовагинит, ассоциированный с моноинфицированием *C. albicans* имеет ряд клинико-анамнестических особенностей, характеризующихся длительностью заболевания, частыми обострениями, выраженной и многоочаговой клинической симптоматикой, локальной лейкоцитарной реакцией, высоким диагностическим титром *C. albicans,* низким титром лактобацилл.

2. У больных с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом выявляются нарушения механизмов антимикробной защиты слизистых оболочек урогенитального тракта в виде фагоцитарной, секреторной, биоцидной дисфункций нейтрофильных гранулоцитов.

3. Включение в комплексную схему лечения хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза ультразвуковых кавитационных воздействий низкой частоты и топического иммуномодулятора повышает клиническую эффективность и способствует восстановлению функциональных возможностей нейтрофильных гранулоцитов вагинального секрета.

Научная новизна

Получены новые данные о повышении клинической и этиологической эффективности лечения хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза и снижении числа рецидивов при сочетании этиотропной терапии с локальным воздействием ультразвуковой кавитации и индуктора интерферона.

Установлено, что у больных хроническим рецидивирующим кандидозным вульвовагинитом в очаге воспаления наблюдаются нарушения функционирования нейтрофильных гранулоцитов в виде снижения активности и интенсивности фагоцитоза, нарушений системы кислородзависимого киллинга, активации лизосомального аппарата, снижения способности к образованию внеклеточных ловушек, восстанавливающиеся в процессе терапии.

Установлено положительное действие топического индуктора интерферона на восстановление способности нейтрофильных гранулоцитов к формированию внеклеточных ловушек у пациенток с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом

Практическая значимость работы

Определены клинико-анамнестические особенности течения хронического рецидивирующего вульвовагинита, ассоциированного с моноинфицированием *C. albicans*.

Предложен метод терапии больных хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом с высокой клинической и этиологической эффективностью, способствующий пролонгированию клинической ремиссии и нормализации показателей локального иммунного статуса.

Обоснована необходимость расширения объема клинико-лабораторного обследования женщин с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом с использованием методов оценки иммунологических показателей вагинального секрета в целях дифференцированного подхода к терапии.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в практику работы ГБУЗ «Челябинский областной клинический кожно-венерологический диспансер», ГБУ «Курганский областной кожно-венерологический диспансер», БУЗ Омской области «Клинический кожно-венерологический диспансер». Разработанные в диссертации положения используются в лекционном курсе на кафедре дерматовенерологии и на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «ЮУГМУ» Минздрава России.

Апробация результатов работы

Основные положения диссертации и результаты исследования обсуждены на заседаниях общества дерматовенерологов Челябинской области (Челябинск, 2010, 2011, 2012, 2013); IX, X конференции иммунологов Урала (Челябинск, 2011, Тюмень 2012); IV Всероссийском конгрессе дерматовенерологов и косметологов (Санкт-Петербург,2011); Межрегиональной научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов «Современные проблемы дерматовенерологии» (Екатеринбург, 2011); Научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов Челябинской области «Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии» (2011); Материалах IV междисциплинарной научно-практической конференции «Современные методы диагностики, лечения кожных болезней и инфекций, передаваемых половым путём» (Казань, 2011); Научно-практической конференции «Инновационные технологии в охране здоровья матери и ребёнка» (Екатеринбург, 2012); Конференции дерматовенерологов и косметологов, посвящённая 75-летию дерматовенерологической службы Челябинской области (Челябинск, 2012); VI съезде дерматовенерологов и косметологов Узбекистана (Ташкент, 2012); Междисциплинарной конференции «Инфекции, передаваемые половым путём и репродуктивное здоровье населения» (Казань, 2013), V Всероссийском конгрессе дерматовенерологов и косметологов (Казань, 2013).

Публикации: по теме диссертации опубликовано 22 работы, в том числе в журналах рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки РФ – 7 публикаций, общим объемом печатных листов 5,1

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 173 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических

рекомендаций. Диссертация иллюстрирована 28 таблицами, 11 рисунками. Указатель литературы включает 209 источников (127 отечественных и 82 зарубежных авторов).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

На базе консультативно-диагностического отделения бюджетного учреждения здравоохранения «Областной клинический кожно-венерологический диспансер» г. Челябинска за период 2009-2013 гг. была сформирована группа из 188 женщин с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом (ХРВК). Пациентки были отобраны на амбулаторно-поликлиническом приеме в ГБУЗ ЧОККВД дерматовенерологами и направлены акушерами-гинекологами из ЛПУ города и области.

При постановке диагноза учтены требования, изложенные в «Клинических рекомендациях по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путём и урогенитальными инфекциями» (Москва, 2012). Согласно Международной классификации болезней (МКБ-10) диагноз рецидивирующий урогенитальный кандидоз, кодировался следующим образом: В37.3-воспалительное заболевание, обусловленное дрожжеподобными грибами рода *Candida,* характеризующееся наличием 4 и более эпизодов в течение года.

При видовой идентификации возбудителя у 160 (85,0 %) женщин выявлены дрожжеподобные грибы *C. albicans.* Эти пациентки составили исследовательскую группу для изучения клинико-анамнестических особенностей ХРВК и оценки эффективности различных видов терапии.

Критерии включения: 1) Возраст 18-45 лет 2) Письменное информированное согласие на участие в исследовании 3) Наличие у обследуемых *C. albicans,* выявленного микроскопическим и культуральным методом с подтверждённой чувствительностью к флуконазолу 4) Давность заболевания 2 и более года и отсутствие эффекта от проводимой ранее терапии

5) Отсутствие заболеваний, требующих назначения антибактериальных и иммуномодулирующих препаратов. Критерии исключения: 1) положительные результаты лабораторных тестов на наличие *N. gonorrhoeae, C. trachomatis, T. vaginalis, M.genitalium, U. urealitycum, M. hominis, G. vaginalis,* HSV, HPV, сифилиса, ВИЧ, HBV, HCV 2) наличие в анамнезе тяжелых соматических, онкологических заболеваний, эндокринопатий, аутоиммунной патологии 3) состояния, ограничивающие приверженность пациента проводимой терапии (деменция, психоневрологические заболевания, наркомания, алкоголизм 4) прием гормональных контрацептивов.

Клинико-анамнестическое исследование включало сбор жалоб, изучение анамнеза, клинический осмотр, оценку субъективных и объективных симптомов, длительность заболевания, частоту рецидивов, лабораторные и инструментальные методы (ультразвуковое исследование органов малого таза). При обследовании мочеполовых органов оценивалось наличие гиперемии и отёчности в области влагалища, вульвы, наружного отверстия уретры, перианальной области, задней спайки влагалища, пахово-бедренных и межъягодичных складок; наличие свободных выделений, цвет, характер. Группу сравнения для оценки иммунологических параметров составили 50 здоровых женщин, с исключенными ИППП, средний возраст (28,50±1,10), сопоставимые по возрасту с пациентками исследовательских групп.

Оценка локального иммунного статуса включала подсчёт качественного и количественного состава лейкоцитов, абсолютное и относительное содержание жизнеспособных клеток в 1 мл секрета (Долгушин И.И. с соавт., 2008). Для оценки функциональной активности нейтрофилов изучали фагоцитарную и лизосомальную активность (Фрейдлин И.С., 1984), кислородзависимый метаболизм и функциональный резерв в НСТ-тесте (Маянский А.Н., Виксман М.Е., 1979).

Ультразвуковые кавитационные воздействия генерировались аппаратом «Фотек АК100-25» (Рег. удостоверение № ФСР 2009/05431 от 09.03.2010 г), параметры воздействия: частота ультразвуковых колебаний 25 кГц, расход лекарственного раствора 100-150 мл/мин, время воздействия 4 мин.

В работе использован иммуномодулирующий препарат (индуктор эндогенных интерферонов) – циклоферон линимент 5,0 %, содержащий 5,0 % акридонуксусной кислоты в виде N-метилглюкаминовой соли, 0,1 % антисептика катапола и 1,2-пропиленгликоль.

В зависимости от получаемой терапии все женщины были разделены на группы: группу 1 «Базис» составили 50 женщин с моноинфицированием урогенитального тракта *C. albicans*, средний возраст 29,11±1,52, которым проводилась только стандартная терапия препаратом флуконазол (по 150 мг 1 раз в 7 дней в течение 6 месяцев) (Клинические рекомендации по ведению больных инфекциями, передаваемыми половым путём и урогенитальными инфекциями, Москва, 2012); группу 2 «Базис+УЗ кавитация» составили 60 женщин с моноинфицированием урогенитального тракта *C. albicans*, средний возраст 33,31±1,99 года, получавшие стандартную этиотропную терапию и ультразвуковые кавитационные орошения влагалища (по 4 минуты 10 дней); группа 3 «Базис+УЗ кавитация+ 5,0 % циклоферона линимент» представлена 50 пациентками с моноинфицированием урогенитального тракта *C. albicans*, средний возраст 29,50±1,41, получавщими стандартную этиотропную терапию и ультразвуковые кавитационные орошения влагалища с последующим введением во влагалище 5,0 % циклоферона линимента (10 процедур).

Клинико-иммунологическое, бактериоскопическое и микробиологическое исследование проводили до начала терапии, через месяц (I клинико - иммунологическое исследование), через 6 месяцев и 14 дней после начала лечения (II клинико - иммунологическое исследование). Заключительный клинико-лабораторный контроль проведен на 12 месяце мониторинга.

Для сравнения терапевтического эффекта применена оценочная шкала, (Овденко М.Б., 2006): отличный эффект - отсутствие субъективных и объективных клинических признаков воспаления, отсутствие лабораторных признаков кандидозного вульвовагинита (псевдомицелия и почкующихся форм *Candida*, отсутствие роста или рост $\leq 10^3$ КОЕ /мл *C. albicans* при посеве на среду Сабуро, лейкоцитарной реакции при микроскопии отделяемого влагалища); хороший эффект - незначительно выраженные объективные и субъективные симптомы, отсутствие лабораторных признаков кандидозного вульвовагинита; удовлетворительный эффект - умеренные объективные и субъективные симптомы, оставшиеся после лечения, отсутствие псевдомицелия и почкующихся форм *Candida,* при культуральном исследовании рост *Candida albicans* $\leq 10^3$ КОЕ /мл, отсутствие лейкоцитарной реакции при микроскопии отделяемого влагалища; неудовлетворительный эффект - отсутствие клинико-лабораторного эффекта от лечения или ухудшение субъективной и объективной симптоматики, положительные результаты культурального исследования, наличие выраженной лейкоцитарной реакции отделяемого влагалища.

Пациентки групп сравнения были сопоставимы по возрасту, длительности заболевания, субъективным и объективным симптомам, количеству рецидивов, данным сексуального, акушерско-гинекологического анамнеза, соматической патологии, лабораторным исследованиям (диагностическому титру C. albicans, лейкоцитарной реакции (52,00±2,60; 50,00±2,2; 51,00±2,26) и показателям местного иммунитета (статистически незначимые различия).

Анализ полученных результатов проводился методами вариационной статистики с использованием пакетов прикладных программ «SPSS for Windows 13.0». Для анализа нормальности распределения данных применяли критерий Шапиро-Уилка. Проверку статистических гипотез в группах проводили с использованием критерия Манна-Уитни. В соответствии с общепринятой

практикой статистических оценок уровень $p \leq 0,05$ был признан приемлемой границей статистической значимости, когда вероятность различия превышала 95%. Для вычисления относительного вклада клинических признаков в развитие исследуемой патологии и оценки эффективности применения терапевтических мероприятий использовали χ^2-квадрат, односторонний точный критерий Фишера. При множественном сравнении (3 групп) для всех статистических критериев ошибка первого рода устанавливалась с учетом поправки Бонферони 0,05/n, где n количество сравнений (для трех групп n=3, ошибка первого рода равна 0,013). Нулевая гипотеза (отсутствие различий) отвергалась, если вероятность (p) не превышала ошибку первого рода ($p<0,013$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный сравнительный анализ клинико-анамнестических и лабораторных данных 160 пациенток ХРВК выявил особенности течения ХРКВ на современном этапе, заключающиеся в том, в 85,0 % случаев ХРВК был вызван *C. albicans*, в 15,0 % - *non-albicans* (*C. glabrata* – 7,0 %, *C. krusei* - 3,7 %, *C. tropicalis* - 2,1 % , *C. psevdotropicalis* - 2,1 %), с давностью заболевания 4,6 лет±0,5 лет, с частыми обострениями (6,1±0,8 в год), от 5 -10 дней до 4-х месяцев после предыдущего лечения, в 88,0 % с диагностическим титром *C. albicans*> 10^4-10^6 КОЕ/мл, в 90,0 % - отсутствием или низким титром 10^2-10^3 лактобацилл, при отсутствии возбудителей ИППП и диагностически значимых титров других условно–патогенных микроорганизмов, лейкоцитарной реакцией - 13,22±0,58 (уретра)-50,00±2,2 (влагалище), манифестацией субъективных симтомов: зуд (100 %), жжение (88,8 %), зуд и болезненность при мочеиспускании (23,8 и 16,7 % соответственно), клинических проявлений: отек и гиперемия вульвы (83,8 – 67,5 %), отек и гиперемия влагалища (33,1 и 28,1 %), сухость слизистой влагалища (9,4 %), трещины в области задней спайки, перианальной области (13,1 %), экскориации, эрозии вульвы (26,3 %). Анализ характера влагалищного отделяемого показал, что лишь у 6,8 % женщин

выделения отсутствовали, в 41,3 % случаев отмечалось наличие белых творожистых выделений, в 14,4 % - сливкообразных, в 22,5 % с кислым запахом, в 95,6 % усиливающихся перед менструацией.

Всем пациенткам до проведения лечения было проведено изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов влагалищного отделяемого. Показатели клеточных факторов вагинального отделяемого женщин с ХРВК представлено в таблице 1.

Таблица 1

Показатели клеточных факторов вагинального отделяемого женщин с ХРВК, M±m

Показатели	Базис n=50	Базис+УЗ n=60	Базис+УЗ+ЦФ n=50	Здоровые n=50
Общее количество лейкоцитов, 10^9/л	8,45±0,37*	8,66±0,57*	8,45±0,37*	2,42±0,18
Относительное содержание макрофагов, %	3,52±0,24*	3,72±0,33*	3,52±0,24*	0,77±0,21
Абсолютное количество нейтрофилов, 10^9/л	7,71±0,27*	8,00±0,17*	7,71±0,27*	3,38±0,16
Относительное содержание нейтрофилов, %	99,01±1,98	97,00±1,66	97,22±2,29	97,14±1,99
Количество жизнеспособных нейтрофилов, 10^9/л	2,94±0,18	2,33±0,12	2,94±0,18*	2,14±0,18
Относительное содержание жизнеспособных нейтрофилов, %	69,2±2,14*	66,25±2,53*	69,2±2,14*	61,20±2,19
Показатель люминесценции лизосом, у.е.	176,46±5,21	181,42±6,23	176,46±5,21*	114,93±0,82
Активность лизосом, %	17,12±2,80*	16,42±2,45*	17,12±2,80*	3,52±1,61
НСТ-спонтанная, у.е. / клетку	0,17±0,06*	0,16±0,05*	0,17±0,06*	0,23±0,02
НСТ-спонтанная,%	12,23±1,06*	13,33±1,08*	12,23±1,06*	18,89±1,10
НСТ-индуцированная у.е. / клетку	0,35±0,02	0,38±0,01	0,35±0,02	0,45±0,010
НСТ-индуцированная %	33,65±1,11*	31,34±1,03*	33,65±1,11*	37,19±0,83

Функциональный резерв нейтрофилов	1,41±0,12*	1,45±0,25*	1,41±0,12*	2,08±0,22
Активность фагоцитоза нейтрофилов, %	26,86±1,34*	25,98±1,54*	26,86±1,34*	35,27±1,34
Интенсивность фагоцитоза нейтрофилов	1,68±0,03	1,70±0,06	1,68±0,03	1,99±0,09
Нейтрофилы с сегментированным ядром	75,23±0,93*	76,18±0,11*	79,23±0,9*	71,12±0,93
Нейтрофилы с недифференцированным ядром	5,42±0,25*	5,52±0,51*	5,42±0,25*	7,02±0,13
Нейтрофильные внеклеточные ловушки	5,02±0,23*	4,99±0,25*	4,92±0,23*	6,99±0,14

Примечание: *статистически значимые различия между показателями здоровых относительно женщин с ХРВК по критерию Манна-Уитни ($p<0,05$)

Анализ функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов вагинального отделяемого у 160 женщин с ХРВК выявил нарушения функционирования нейтрофильных гранулоцитов в виде снижения активности и интенсивности фагоцитоза, нарушений системы кислородзависимого киллинга, активации лизосомального аппарата, снижения способности к образованию внеклеточных ловушек ($p<0,05$).

Для сравнения терапевтического эффекта в группах были использованы оценочные категории (Овденко М.Б., 2006). Выявлено, что у пациенток после лечения с применением этиотропной терапии, УЗ кавитационных воздействий и топического иммуномодулятора при поведении второго контрольного исследования отмечен достоверно высокий процент отличных и хороших результатов лечения по сравнению с результатами в других группах (64.0 %-91,0 %-94,0 % соответственно), $p<0,05$. Оценка терапевтического эффекта во время 1 и 2 контрольных исследований приведена в таблице 2.

Таблица 2

Оценка терапевтического эффекта, проведенная во время 1-го и 2-го контрольных клинико-лабораторных обследований пациенток с ХРВК

Оценка	1-й контроль	2-й контроль

терапевтического эффекта	Базис, n=50	Базис+УЗ n=60	Базис+УЗ+Ф n=50	Базис n=50	Базис+УЗ n=60	Базис+УЗ+ЦФ n=50
отличный	17 (34,0%)	32* (53,3%)	41** (82,0%)	17 (34,0%)	36*** (60,0%)	42**** (84,0%)
хороший	20 (40,0%)	15 (25,0%)	5** (10,0%)	14 (28,0%)	19 (31,7%)	5**** (10,0%)
удовлетвори-тельный	6 (12,0%)	8 (13,3%)	4 (8,0%)	10 (20,0%)	0*** (0,0%)	0**** (0,0%)
неудовлетвори тельный	7 (14,0%)	5 (8,4%)	0** (0,0%)	9 (18,0%)	5 (8,3%)	0 (00,0%)
всего	50 (100%)	60 (100%)	50 (100%)	50 (100%)	60 (100%)	50 (100%)

Примечание: p<0,05;*- достоверность показателей 1контроль в группе «Базис» по отношению к показателям «Базис+УЗ», **-достоверность показателей «Базис» контроль 1по отношению к показателям «Базис+УЗ+ЦФ» контроль1, , ***-достоверность показателей «Базис» контроль 2 по отношению к показателям «Базис+УЗ» контроль 2,****показателями «Базис+УЗ» контроль 2и «Базис+УЗ+ЦФ»контроль2

В течение 6 месяцев прохождения лечения пациентки были трехкратно консультированы дерматовенерологом для исключения побочных эффектов проводимой терапии. При оценке результатов терапии при втором клинико-иммунологическом исследовании на сроке 6 месяцев 14 дней нами выявлено, что положительный эффект отсутствовал у 9(18,0 %) женщин получавших этиотропную терапию, и у 5(8,3 %) женщин получавших этиотропную терапию в сочетании с ультразвуковыми кавитационными орошениями, эти женщины были исключены из дальнейшего наблюдения и им было предложено дополнительное обследование и альтернативные варианты терапии. За период от 7до 12 месяцев из групп наблюдения выбыло еще 9 пациенток; из которых на прием к дерматовенерологу обратилось 5 женщин («Базис»-2, «Базис+УЗ»-2, «Б+УЗ+ЦФ»-1) с рецидивом ХРВК, который был диагностирован по наличию объективных, субъективных симптомов заболевания, лейкоцитарной реакции влагалищного отделяемого и росту *C. albicans*> 10^{4}-КОЕ/мл. Эти женщины были исключены из исследования, им был предложена альтернативная терапия. 4

женщин выбыло из обследования на сроках 7-12 месяцев по причине наступления беременности, возникновения острых воспалительных заболеваний и необходимости приема антибактериальных препаратов длительным курсом.

Согласно задачам, поставленным в работе, через 6 месяцев после окончания терапии пациенткам было проведено клинико-лабораторное исследование для регистрации возможных рецидивов данного заболевания. Количество зарегистрированных рецидивов представлено в таблице 3.

Таблица 3

Рецидивы ХРВК, выявленные на сроке 6 месяцев после окончания терапии

Срок	Базис, n=38		Базис+УЗ, n=52		Базис+УЗ+ЦФ, n=47	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
6 месяцев	7	18,4	5	9,6	2	4,3*

Примечание: уровень значимости различий между исследуемыми группами. $p<0,05$;*- достоверность показателей группы « Базис» от группы «Базис+УЗ+ЦФ» $p<0,05$.

В группе женщин с ХРВК получавших этиотропную терапию зарегистрировано 18,4 % рецидивов, при включении в стандартную схему терапии ультразвуковых кавитационных воздействий процент рецидивов снизился и составил 9,6 %, достоверное снижение количества рецидивов отмечено только в группе женщин получавших трехкомпонентную терапию (4,3 %), $p<0,05$.

Снижение количества рецидивов доказывает целесообразность включения в схему лечения хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза комплексного фармакофизиотерапевтического метода, состоящего из орошения влагалища УЗ-физиологическим раствором и введения 5,0 % циклоферона линимента.

Анализ влияния различных вариантов терапевтических мероприятий у женщин с ХРВК на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов, показал, что кавитационная и терапия топическим

иммуномодулятором позитивно влияет на иммунопатологические процессы, происходящие во влагалище женщин инфицированных *C. albicans,* способствуя устранению выявленного дисбаланса в системе нейтрофильных гранулоцитов.

У пациенток с ХРВК, пролеченных по базисной методике, не отмечено значительной положительной динамики показателей лейкоцитарной реакции, лизосомальной активности, фагоцитарной активности, НСТ-теста, к моменту проведения контрольных исследований (p>0,05). Динамика показателей функциональной активности нейтрофилов представлена на рисунке №1 .

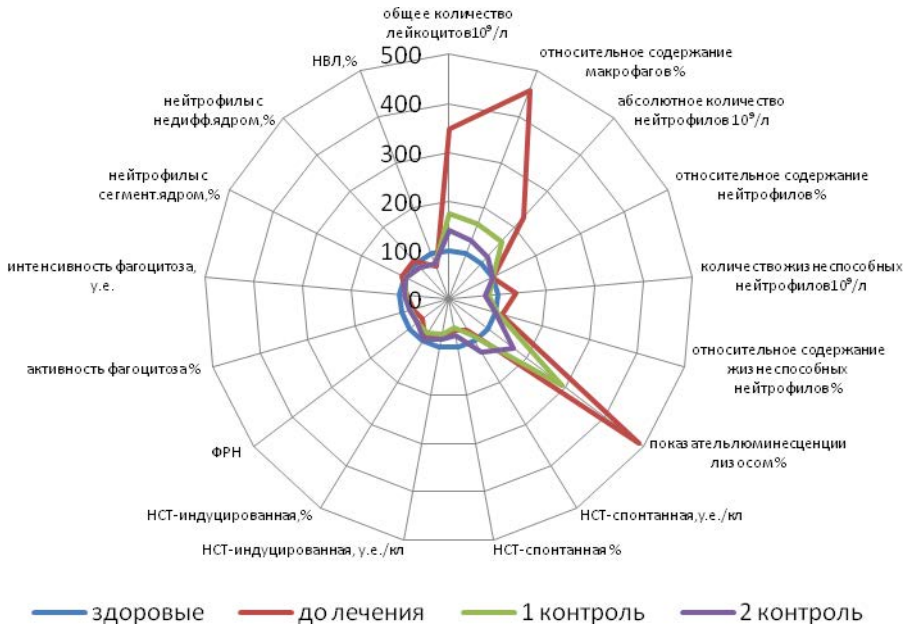


Рисунок 1. Динамика показателей вагинального отделяемого у женщин с ХРВК при стандартной терапии (p<0,05)

Включение в схему лечения ультразвуковых кавитационных воздействий способствует нормализации ряда параметров, за исключением показателей активности фагоцитоза. Динамика показателей функциональной активности нейтрофилов при стандартной терапии в сочетании с УЗ воздействиями представлена на рисунке 2.

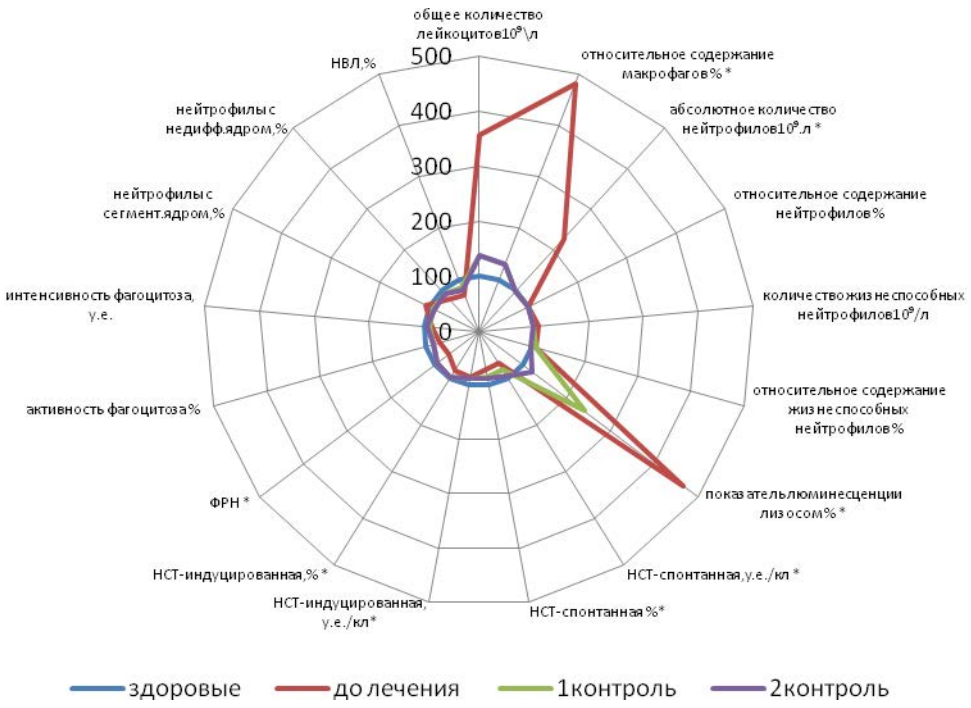


Рисунок.2 Динамика показателей вагинального отделяемого у женщин с ХРВК при стандартной терапии в сочетании с ультразвуком ($p<0,05$).

Сопоставление динамики изменения иммунологических показателей при различных схемах позволяет отметить, что после терапии с использованием ультразвуковых кавитационных воздействий и линимента циклоферона, были зарегистрированы более значимые позитивные изменения функциональной активности нейтрофилов (лизосомальная активность нейтрофилов, активность и интенсивность нейтрофилов по НСТ-тесту, фагоцитарная активность нейтрофилов) по сравнению показателями, полученными после применения только базисной и ультразвуковой кавитации с физиологическим раствором, $p<0,05$. Динамика показателей функциональной активности нейтрофилов вагинального отделяемого при терапии с использованием УЗ воздействий и циклоферона представлена на рисунке 3.

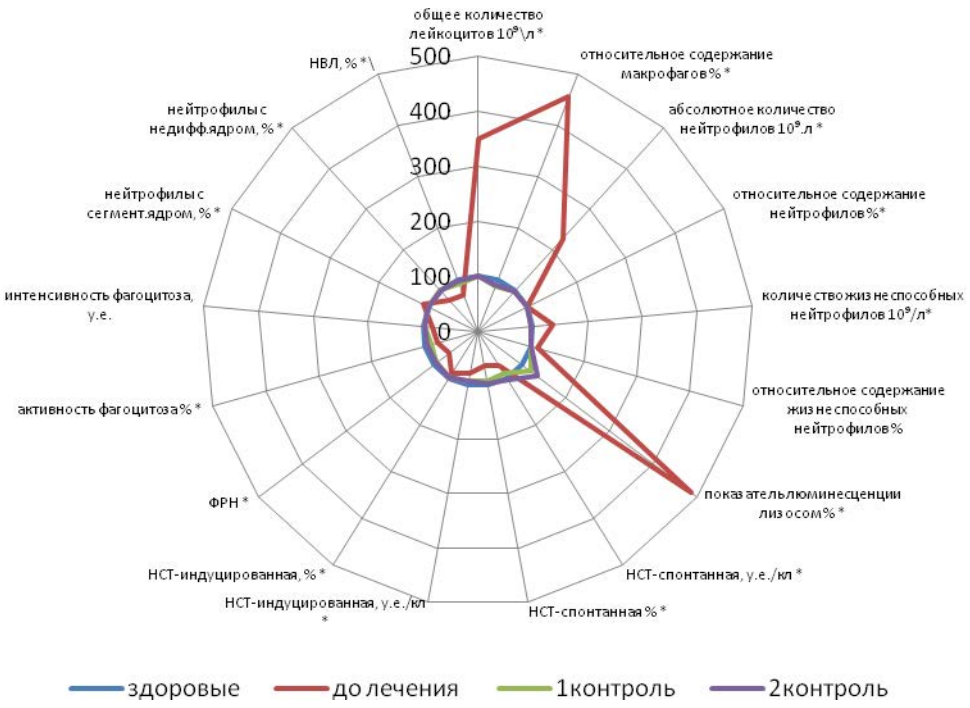


Рисунок.3 Динамика показателей вагинального отделяемого у женщин с ХРВК при стандартной терапии в сочетании с ультразвуком и линиментом циклоферона ($p<0,05$).

Тем не менее, достоверные позитивные изменения свойств нейтрофилов вагинального секрета имели одинаковую направленность и заключались в усилении их функциональной и секреторной активности, что может свидетельствовать о сходных ответных клеточных реакциях, обеспечивающих адекватный ответ в пределах гомеостатического регулирования.

Учитывая, что микробоцидная функция нейтрофилов заключается не только в поглощении и внутриклеточной переработке захваченного материала, но и в секреции во внеклеточное пространство структур, состоящих из нуклеиновых кислот и ферментов – нейтрофильных внеклеточных ловушек, была изучена динамика их содержания у женщин с ХРВК при различных схемах терапии. Для этого был произведен анализ морфологических форм нейтрофильных гранулоцитов (НГ) (НГ с сегментированным ядром, НГ с

недифференцированным ядром) и уровень нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ).

Результаты исследования показали, что у здоровых женщин содержание НВЛ, НГ с сегментированным ядром, НГ с недифференцированным ядром отличалось от показателей женщин с ХРВК ($p<0,05$). Анализ количества и динамики НВЛ в группе «Базис» не выявил нормализации их содержания при проведении контрольных исследований. В группе «Базис+УЗ» до начала терапии количество НВЛ у женщин с ХРВК составило 4,99±0,25 %; на момент проведения 1-го контроля их содержание повысилось до 5,96±0,20 %, при проведении 2-го контроля увеличилось до 5,92±0,13 %, но не достоверно ($p>0,05$). Статистической разницы между показателями 1-го и 2-го контроля не было.

Включение в схему терапевтических мероприятий циклоферона линимента и ультразвуковой кавитации продемонстрировало усиление кислородзависимого метаболизма НГ, снижение содержания нейтрофилов с сегментированным ядром на 10,0 %, повышение содержания нейтрофилов с недифференцированным ядром на 22,7 %, увеличение количества нейтрофильных внеклеточных ловушек в вагинальном секрете на 29,2 % ($p\leq0,05$) по сравнению с показателями до лечения. Результаты данного исследования позволяют заключить, что одним из возможных механизмов действия индукторов эндогенных интерферонов является активация такой функции нейтрофильных гранулоцитов, как формирование внеклеточных ловушек.

ВЫВОДЫ

1. Превалирующим этиологическим агентом хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза является *C. albicans* (85,0 % случаев), *C. glabrata* выявляется в 7,0 %, *C. krusei* - *в* 3,8 %, *C. tropicalis* - 2,1 % , *C. psevdotropicalis* - в 2,1 % случаев.

2. У пациенток с хроническими рецидивирующими вульвовагинитами, ассоциированными с *C. albicans* длительность заболевания составила 4,6±0,5 года, при среднем количестве рецидивов 6,1±0,8 в год. Хронический рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз, ассоциированный с *C. albicans* характеризуется выраженной и многоочаговой клинической симптоматикой, высокими титрами *C. albicans* при низких титрах лактобактерий во влагалищном отделяемом.

3. Включение топического индуктора интерферона в комплексную схему лечения хронического рецидивирующего вульвовагинального кандиоза с применением системного антимикотического препарата и ультразвуковой кавитации приводит к достоверному увеличению клинической и этиологической эффективности. По окончании терапии удельный вес отличных и хороших результатов терапевтического эффекта составил 62,0 % при применении только этиотропной терапии, 91,0 % при сочетании этиотропной терапии с ультразвуковой кавитацией и 94,0 % при применении этиотропной терапии, ультразвуковой кавитации и топического индуктора интерферона.

4. Хроническое рецидивирующее течение вульвовагинального кандидоза сопровождается выраженной местной нейтрофильной и макрофагальной реакцией и изменениями функциональной активности нейтрофилов вагинального отделяемого: снижением активности и интенсивности фагоцитоза, нарушениями системы кислородзависимого киллинга, активацией лизосомального аппарата, снижением способности к формированию внеклеточных ловушек.

5. По окончании лечения в группе пациенток, получавших только этиотропную терапию, не происходит восстановления значительного числа показателей функционального состояния нейтрофильных гранулоцитов влагалищного отделяемого: общего количества лейкоцитов, лизосомальной активности, кислородзависимого киллинга, фагоцитарной активности, способности к формированию внеклеточных ловушек. Включение в схему лечения ультразвуковых кавитационных воздействий способствует нормализации ряда параметров, за исключением показателей активности фагоцитоза и способности к формированию внеклеточных ловушек. Применение топического индуктора интерферона приводит увеличению формирования внеклеточных ловушек в 1,3раза и полному восстановлению функциональных возможностей нейтрофилов вагинального секрета.

6. Применение топического индуктора интерферона в комплексной терапии ХРВК с использованием системного антимикотика и ультразвуковой кавитации достоверно снижает частоту возникновения рецидивов через шесть месяцев после окончания терапии (в 4,3 раза в сравнении с этиотропной монотерапией, p=0,033).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При хроническом рецидивирующем вульвовагинальном кандидозе для повышения эффективности терапии и снижения частоты рецидивов рекомендуется, наряду с этиотропной терапией, включение в схему терапевтических мероприятий ультразвуковых кавитационных воздействий с последующим локальным применением 5,0 % линимента циклоферона.

2. Для выявления причин рецидивирования хронического вульвовагинального кандидоза рекомендуется проводить исследование функционального состояния нейтрофильных гранулоцитов влагалищного отделяемого.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Гизингер О.А. Анализ влияния ультразвуковых воздействий низкой интенсивности на факторы антимикробной резистентности при сочетании кандидозно-микоплазменной инфекции генитального тракта / О.А. Гизингер, И.В. Семенова, О.И. Летяева, Т.А. Зиганшина, О.Р. Зиганшин, Ю.А. Семенов // Известия высших учебных заведений. Уральский регион. – 2011. – № 4. – С. 136-143.

2. Гизингер О.А. Анализ клинико-иммунологической эффективности низкоинтенсивного лазерного излучения в комплексной терапии хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза / О.А. Гизингер, И.В. Семенова, О.Р. Зиганшин, Ю.А. Семенов, О.И. Летяева, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева, И.И. Долгушин, В.А. Малетин // Вестник Челябинской областной клинической больницы. – 2011. – № 4(15). – С. 37-39.

3. Гизингер О.А. Анализ содержания экспрессия поверхностных рецепторов апоптоза CD-95 (FAS/APO-1) на нейтрофилах цервикального секрета женщин с хроническим вульвовагинальным кандидозом / О.А. Гизингер, И.В. Семенова // Zprávy vědecké ideje – 2011 : materialy VII mezinárodní védecko-praktická conference. – Praha : Education and Science, 2011. – S. 3-5.

4. Семенова И.В. Иммунологическая эффективность локального применения ультразвука низкой интенсивности в комплексной терапии хронического вульвовагинального кандидоза / И.В. Семенова, О.А. Гизингер, О.Р. Зиганшин, Т.А. Зиганшина, Ю.А. Семенов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 4/1(38). – С. 151-152.

5. Семенова И.В. Использование линимента циклоферона и ультразвуковых воздействий в комплексной терапии хронического рецидивирующего кандидозного вульвовагинита у женщин / И.В. Семенова, О.Р. Зиганшин, Т.А. Зиганшина // Современные методы диагностики, лечения кожных болезней и инфекций, передаваемых половым путем : 4-я междисциплинар. науч.-практ. конф. : сб. науч. тр. / под общ. ред. Р.М. Абдрахманова. – Казань, 2011. – С. 378-382.

6. Семенова И.В. Использование ультразвуковой кавитации в комплексной терапии хронического рецидивирующего кандидоза / И.В. Семенова, Т.А. Зиганшина, О.Р. Зиганшин, Ю.А. Семенов, Т.Г. Макаридина // Актуальные вопросы дерматовенерологии и дерматоонкологии : науч.-практ. конф. дерматологов Центр. федер. округа РФ : сб. ст. – Москва, 2011. – С. 40-42.

7. Семенова И.В. Клинико-иммунологическая оценка эффективности локального применения ультразвука низкой интенсивности в комплексной терапии хронического вульвовагинального кандидоза / И.В. Семенова, Т.А. Зиганшина, О.Р. Зиганшин, О.А. Казакова, Ю.А. Семенов, Т.Г. Макаридина // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 2/2(35). – С. 64-65.

8. Гизингер О.А. Мониторинг влияния ультразвуковых кавитационных воздействий на факторы антимикробной защиты при сочетанной кандидозно-микоплазменной инфекции генитального тракта / О.А. Гизингер, И.В. Семенова, О.Р. Зиганшин, Ю.А. Семенов, О.И. Летяева, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева, И.И. Долгушин, В.А. Малетин // Вестник Челябинской областной клинической больницы. – 2011. – № 4(15). – С. 42-46.

9. Гизингер О.А. Роль физиотерапевтических воздействий в коррекции дисфункций факторов противоинфекционной защиты организма / О.А. Гизингер, О.И. Летяева, Т.А. Зиганшина, И.В. Семенова // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18, №. 4. – С. 9-13.

10. Семенова И.В. Влияние ультразвуковых кавитационных воздействий на содержание нейтрофильных внеклеточных ловушек в вагинальном секрете женщин с

хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом / И.В. Семенова, О.А. Гизингер, О.Р. Зиганшин, Ю.А. Семенов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 4 (41). – С. 215-216.

11. Семенова И.В. Динамика антимикробных пептидов в цервикальном секрете у женщин с хроническим рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом до и после терапии с применением ультразвука низкой частоты / И.В. Семенова, О.А. Гизингер, О.И. Летяева, О.Р. Зиганшин, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева, Ю.А. Семенов // Современные методы диагностики, лечения кожных заболеваний и инфекций, передаваемых половым путем: 4-я юбил. междисцплинар. науч.-практ. конф. : сб. науч. тр. / под общ. ред. Р.М. Абдрахманова. – Казань, 2012. – С. 199-203.

12. Семенова И.В. Динамика гуморальных факторов нижнего отдела репродуктивного тракта у женщин с сочетанной кандидозно-микоплазменной инфекцией до и после локальной лазеротерапии / И.В. Семенова, О.А. Гизингер, О.И. Летяева, О.Р. Зиганшин, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева, Ю.А. Семенов // Современные методы диагностики, лечения кожных заболеваний и инфекций, передаваемых половым путем: 4-я юбил. междисцплинар. науч.-практ. конф. : сб. науч. тр. / под общ. ред. Р.М. Абдрахманова. – Казань, 2012. – С. 193-195.

13. Гизингер О.А. Изменение содержания поверхностных рецепторов апоптоза на нейтрофилах вагинального секрета женщин с хроническим рецидивирующим кандидозом при локальных лазерных воздействиях / О. А. Гизингер, О.И. Летяева, И.В. Семенова, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева, И.И. Долгушин, О.А. Романенко, Ю.П. Хрычова, Н.П. Кравченко // Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии : науч.-практ. конф. : сб. тр.– Челябинск, 2012. – С. 94-95.

14. Гизингер О.А. Иммунобиологические дисфункции при осложненной хламидийной инфекции и методы их локальной иммунокоррекции / О.А. Гизингер, О.И. Летяева, О.Р. Зиганшин, И.В. Семенова // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2012. – № 2(20). – С. 145-155.

15. Гизингер О.А. Исследование дегрануляционных возможностей нейтрофилов при ультразвуковых кавитационных воздействиях в эксперименте / О.А. Гизингер, И.В. Семенова, И.И. Долгушин // Медицинский академический журнал. – 2012. – С. 364-366. – Прил. : Материалы II Всерос. науч. конф. молодых ученых «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия».

16. Гизингер О.А. Исследование клинико-иммунологической эффективности ультразвуковых воздействий низкой частоты в комплексной терапии вульвовагинального кандидоза / О.А. Гизингер, И.В. Семенова, О.Р. Зиганшин, К.В. Никушкина // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 2(39). – С. 125-126.

17. Гизингер О.А. Клинико-иммунологическое обоснование применения ультразвуковых кавитационных воздействий в комплексной терапии вульвовагинального кандидоза у женщин репродуктивного возраста / О.А. Гизингер, О.И. Летяева, И.В. Семенова, О.Р. Зиганшин, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева, М.В. Униговская, О.А. Романенко, Т.Г. Шалонина, Ю.А. Семенов, Ю.П. Хрычова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 4(41). – С. 195-196.

18. Гизингер О.А. Комплексное иммунорегуляторное воздействие ультразвуковой кавитации и рекомбинантного IL-2 (rIL-2) на факторы антимикробной резистентности урогенитального тракта при кандидозно-микоплазменной инфекции / О.А. Гизингер, И.В. Семенова, О.И. Летяева, О.Р. Зиганшин, М.В. Униговская, О.А. Романенко, К.В.

Никушкина, И.Ю. Орнер, Ю.А. Семенов // Российский иммунологический журнал. – 2012. – Т. 6(14), № 3. – С. 62-63.

19. Летяева О.И. Папилломавирусная инфекция и вульвовагинальный кандидоз: комплексный подход к терапии / О.И. Летяева, О.А. Гизингер, О.С. Абрамовских, И.В. Семенова // XIX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» : сб. материалов конгр. : тез. докл. – Москва, 2012. – С. 314.

20. Семенова И.В. Применение ультразвуковой кавитации для коррекции дисфункций, локальных иммунных факторов у женщин с кандидозно-микоплазменной инфекцией гениталий / И.В. Семенова, О.А. Гизингер, О.Р. Зиганшин, О.А. Летяева, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева, Т.Г. Шалонина // Аллергология и иммунология. – 2012. – Т. 13, № 1. – С. 50. – Тезисы докладов VII международного конгресса по реабилитации в медицине и имунореабилитации и V Всемирного форума по астме и респираторной аллергии.

21. Семенова И.В. Ультразвуковые кавитационные воздействия низкой частоты как фактор повышения антимикробной резистентности генитального тракта у женщин при терапии сочетанной кандидозно-микоплазменной инфекции / И.В. Семенова, О.А. Гизингер, О.И. Летяева, О.Р. Зиганшин, К.В. Никушкина, Е.А. Мезенцева, Ю.А. Семенов // Современные методы диагностики, лечения кожных заболеваний и инфекций, передаваемых половым путем : 4-я юбил. междисцплинар. науч.-практ. конф.: сб. науч. тр. / под общ. ред. Р.М. Абдрахманова. – Казань, 2012. – С. 190-193.

22. Гизингер О.А. Влияние ультразвуковых кавитационых воздействий низкой частоты на активность нейтрофильных гранулоцитов in vitro /О.А. Гизингер, О.И. Летяева,И.И. Долгушин, И.И. Семёнова, О.Р. Зиганшин//Вести Высших Учебных заведений. Уральский регион.-2013.-№3.-с.145-153.

Список сокращений

ХРВК – хронический рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз

ИППП – инфекции, передающиеся половым путём

ИФА – иммуноферментный анализ

НВЛ – нейтрофильная внеклеточная ловушка

НГ – нейтрофильный гранулоцит

НСТ- инд. – тест восстановления нитросинего тетразолия индуцированный

ПЦР – полимеразная цепная реакция

УЗ – ультразвуковые воздействия низкой частоты

ФРН – функциональный резерв нейтрофилов

ЦФ – циклоферон