

# ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 22 №2



Problems in medical mycology

Vol.22 N 2

2020

Научно-практический журнал «Проблемы медицинской микологии» зарегистрирован ВАК  
и с 2005 г. включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ)

### **EDITORIAL BOARD**

#### **Chief Editor —**

N.V. Vasilyeva — Honored Scientist of the Russian Federation, Ph.D., prof. (Russia)

#### **Deputies Chief Editor —**

N.N. Klimko — M.D., prof. (Russia)

A.E. Taraskina — Ph.D. (Russia)

#### **Responsible secretary —**

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

#### **Manager of Editorial Office —**

E.S. Gukova (elena.gukova@szgmu.ru)

### **SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD**

Bennett J. — M.D. (USA), Dupont B. — M.D. (France), Hurzilava O.G. — M.D., prof. (Russia), Golubev V.I. — Ph.D. (Russia), Kashkin K.P. — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Kolbin A.C. — M.D., prof. (Russia), Mazurov V.I. — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Ozerskaya S.M. — Ph.D. (Russia), Polachek I. — M.D. (Israel), Samzov A.V. — M.D., prof. (Russia), Sidorenko S.V. — M.D., prof. (Russia), Shulgina M.V. — Ph.D. (Russia), Tietz H.-J. — M.D. (Germany), Viviani M.A. — M.D. (Italy), Zinzerling V.A. — M.D., prof. (Russia), Yamaguchi M. — Ph.D. (Japan), Zhang F. — M.D.&Ph.D. (China)

## **PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY**

*Vol. 22, № 2, 2020*

Kashkin Research Institute of Medical Mycology  
© North-Western State Medical University  
named after I.I. Mechnikov

**Проблематика журнала:** Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской микробиологии — биология возбудителей, клиника, диагностика, эпидемиология, иммунитет, терапия и профилактика инфекций, микроорганизмы-контаминанты в лабораторных, клинических и других условиях.

# **ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ**

*Том 22, № 2, 2020*

Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина  
© ФГБОУ ВО Северо-Западный  
государственный медицинский университет  
им. И.И. Мечникова Минздрава России

### **РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

#### **Главный редактор —**

Н.В. Васильева — Заслуженный деятель науки Российской Федерации, д.б.н., профессор (Россия)

#### **Заместители главного редактора:**

Н.Н. Климко — д.м.н., профессор (Россия)

А.Е. Тараскина — к.б.н. (Россия)

#### **Ответственный секретарь —**

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

#### **Зав. редакцией —**

Е.С. Гукова (elena.gukova@szgmu.ru)

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ**

Беннетт Дж. — доктор медицины (США), Вивиани М.А. — доктор медицины (Италия), Голубев В.И. — д.б.н. (Россия), Б. Дюпон — доктор медицины (Франция), Кашкин К.П. — д.м.н., академик РАМН, профессор (Россия), Колбин А.С. — д.б.н., профессор (Россия), Мазуров В.И. — д.м.н., акад. РАМН, профессор (Россия), Озерская С.М. — д.б.н. (Россия), Полачек И. — доктор медицины (Израиль), Самцов А.В. — д.м.н., профессор (Россия), Сидоренко С.В. — д.м.н., профессор (Россия), Титц Х.-Й. — доктор медицины (Германия), Хурцилава О.Г. — д.м.н., проф. (Россия), Цинзерлинг В.А. — д.м.н., профессор (Россия), Чжан Ф. — доктор медицины (Китай), Шульгина М.В. — д.б.н. (Россия), Ямагучи М. — доктор медицины (Япония)

**Editorial policy:** The Journal «Problems in Medical Mycology» specializes in original articles that describe innovative research on all aspects of Medical Microbiology — biology of pathogens, clinic, diagnostic, epidemiology, immunity, therapy and prophylaxis of infections, microorganisms — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

## СОДЕРЖАНИЕ

### ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

- Фролова Е.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Аак О.В., Соловьева Г.И., Тараскина А.Е., Васильева Н.В. Особенности взаимодействия клеток иммунной системы с грибами порядка *Mucorales* (обзор литературы)..... 3
- Медведева Т.В., Леина Л.М., Чилина Г.А., Петунова Я.Г., Пчелин И.М. Микроспория: современное представление о проблеме (обзор литературы и описание клинических случаев)..... 12

### КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

- Хостелиди С.Н., Шадривова О.В., Борзова Ю.В., Десятник Е.А., Николаева Н.Г., Богомоллова Т.С., Авдеенко Ю.Л., Волкова А.Г., Попова М.О., Зубаровская Л.С., Колбин А.С., Медведева Н.В., Подольцева Э.И., Климович А.В., Лебедева М.С., Семелев В.Н., Зюзгин И.С., Чудиновских Ю.А., Успенская О.С., Сатурнов А.В., Клишко Н.Н. Клинико-лабораторные особенности мукомикоза у взрослых 22
- Юновидова А.А., Соболев А.В., Скрек С.В., Васильев Н.Ю., Зелянина М.И., Машука Д.М., Аак О.В., Клишко Н.Н. Мико-генная сенсibilизация как предиктор тяжелого течения бронхиальной астмы 29
- Антонова С.Б., Уфимцева М.А., Голубкова А.А., Косова А.А. Риск-ориентированный подход к профилактике дерматоми-козов в современных условиях (по материалам обследования пациентов г. Екатеринбурга) 32
- Хисматуллина З.Р., Рустамханова Г.Р. Эпидемиологические и клинические особенности дерматомикозов стоп на фоне неалкогольной жировой болезни печени 37

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

- Васильева Н.В., Степанова А.А., Богомоллова Т.С., Чилина Г.А., Авдеенко Ю.Л., Босак И.А., Выборнова И.В., Аак О.В., Соловьева Г.И., Павлова И.Э. Ультраструктурная организация клеток *Rhizopus arrhizus* в условиях культуры 40
- Махрова Т.В., Заславская М.И., Галка А.Г., Костров А.В. Противогрибковое действие холодной гелиевой плазмы на *Candida* spp. в экспериментах *in vitro* 45
- Рябинин И.А., Васильева Н.В., Борзова Ю.В. Характеристика сериновой протеазы *Syncephalastrum racemosum* Cohn, 1886 50

## CONTENTS

### PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

- Frolova E.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Aak O.V., Solovjova G.I., Taraskina A.E., Vasilyeva N.V. Features of interaction of cells immune system with *Mucorales* (literature review) 3
- Medvedeva T.V., Leina L.M., Chilina G.A., Petunova Ya.G., Pchelin I.M. Microsporia: current understanding of the problem (lit-erature review and description of clinical cases) 12

### CLINICAL MYCOLOGY

- Khostelidi S.N., Shadrivova O.V., Borzova U.V., Desyatnik E.A., Nicolaeva N.G., Bogomolova T.S., Avdeenko U.L., Volkova A.G., Popova M.O., Zuborovskaya L.S., Kolbin A.S., Medvedeva N.V., Podoltseva E.I., Klimovich A.V., Lebedeva M.S., Semelev V.N., Zuzgin I.S., Chudinovskih U.A., Uspenskaya O.S., Saturnov A.V., Klimko N.N. Clinical and laboratory features of mucormycosis in adults 22
- Yunovidova A.A., Sobolev A.V., Skrek S.V., Vasilyev N.Y., Zelianina M.I., Mashuka D.M., Aak O.V., Klimko N.N. Mycogenic sensitization as a predictor of severe bronchial asthma 29
- Antonova S.B., Ufimtseva M.A., Golubkova A.A., Kosova A.A. Risk-oriented approach to the prevention of skin mycoses in modern conditions (based on the materials of the patients examination in Ekaterinburg city) 32
- Khismatullina Z.R., Rustamkhanova G.R. Epidemiological and clinical features of dermatomycosis of the feet on the background of non-alcoholic fatty liver disease 37

### EXPERIMENTAL MYCOLOGY

- Vasilyeva N.V., Stepanova A.A., Chilina G.A., Bogomolova T.S., Avdeenko Y.L., Bosak I.A., Vybornova I.V., Aak O.V., Solo-vyeva G.I., Pavlova I.E. Ultrastructural organization of *Rhizopus arrhizus* cells in culture conditions 40
- Makhrova T.V., Zaslavskaya M.I., Galka A.G., Kostrov A.V. Antifungal action of cold helium plasma on *Candida* spp. in experi-ments *in vitro* 45
- Ryabinin I.A., Vasilyeva N.V., Borzova Y.V. Characteristics of serine proteinase from *Syncephalastrum racemosum* Cohn, 1886 50

## ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК ИММУННОЙ СИСТЕМЫ С ГРИБАМИ ПОРЯДКА *MUCORALES* (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Фролова Е.В. (зав. лаб.)\*, Филиппова Л.В. (с.н.с., ассистент кафедры), Учеваткина А.Е. (с.н.с.), Аак О.В. (в.н.с.), Соловьева Г.И. (в.н.с.), Тараскина А.Е. (зав. лаб.), Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Мукормикоз – инвазивная грибковая инфекция, характеризующаяся агрессивным течением с разрушением тканевых барьеров, ангиоинвазией, гематогенной диссеминацией и последующим развитием тромбозов и некроза тканей. Высокий уровень смертности больных мукормикозом, достигающий 50% и более, связан не только с агрессивным характером инфекции и устойчивостью мукоромицетов к большинству используемых в настоящее время антифунгальных препаратов, но также с неспособностью иммунной системы человека успешно противостоять мукоромицетам. Вдыхаемые споры мукоромицетов способны адгезировать к эпителиальным клеткам дыхательных путей и проникать в них, однако механизмы этого взаимодействия не вполне ясны. Особенности взаимодействия клеток иммунной системы с грибами порядка *Mucorales* определяются стадией развития микромицетов. При попадании в организм находящиеся в покое споры устойчивы к фагоцитозу и киллингу. Напротив, макрофаги и нейтрофилы способны повреждать набухшие споры и гифы грибов. После преодоления эндотелиального барьера мукоромицеты контактируют с тромбоцитами, которые подавляют способность гиф к прорастанию. Особенностью грибов порядка *Mucorales* является их способность активировать дендритные клетки к избыточной продукции провоспалительных цитокинов, что усугубляет дисфункцию эпителиального барьера. Известно, что *Mucorales*-специфические Т-клетки присутствуют как у здоровых лиц, так и у гематологических пациентов с инвазивным мукормикозом легких. Однако необходимы новые знания об особенностях взаимодействия клеток иммунной системы с грибами порядка *Mucorales* для повышения эффективности терапевтической стратегии в борьбе с мукормикозом.

**Ключевые слова:** мукормикоз, споры, гифы, врожденный иммунитет, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, адаптивный иммунитет

## FEATURES OF INTERACTION OF CELLS IMMUNE SYSTEM WITH *MUCORALES* (LITERATURE REVIEW)

Frolova E.V. (head of the laboratory), Filippova L.V. (senior scientific collaborator), Uchevatkina A.E. (senior scientific collaborator), Aak O.V. (leading scientific collaborator), Solovjova G.I. (leading scientific collaborator), Taraskina A.E. (head of the laboratory), Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

*Mucormycosis is an invasive fungal infection characterized by aggressive course with destruction of tissue barriers, angioinvasia, hematogenic dissemination and subsequent development of thrombosis and tissue necrosis. The high mortality rate of patients with mucormycosis, reaching 50% or more, is associated not only with the aggressive nature of the infection and the resistance of mucormycetes to most of the currently used antifungal drugs, but also with the inability of the human immune system to successfully resist mucoromycetes. Inhaled mucormycete spores are able to adhere to the epithelial cells of the respiratory tract and penetrate them, but the mechanisms of this interaction are not completely clear. The interaction of immune system cells with fungi of the order *Mucorales* is determined by the stage of micromycetes development. When ingested, dormant spores are resistant to phagocytosis and killing. On the contrary, macrophages and neutrophils can damage swollen spores and hyphae of fungi. After overcoming the endothelial barrier, mucormycetes come into contact with platelets, which inhibit the ability of hyphae to germinate. A special feature of fungi of the order *Mucorales* is their ability to activate dendritic cells to excess production of proinflammatory cytokines, which exacerbates the dysfunction of the epithelial barrier. *Mucorales*-specific T-cells are present in both healthy individuals and hematological patients with invasive lung mucormycosis. However, new knowledge about the interaction of immune system cells with fungi of the order *Mucorales* is needed to improve the effectiveness of the therapeutic strategy in the fight against mucormycosis.*

**Key words:** mucormycosis, spores, hyphae, innate immunity, macrophages, neutrophils, dendritic cells, adaptive immunity

### ВВЕДЕНИЕ

За последние два десятилетия значительно возросла распространенность инвазивных грибковых инфекций у различных категорий иммунокомпрометированных больных [1]. Одной из таких инфекций является мукормикоз, обусловленный грибами порядка *Mucorales*. Эти микромицеты относятся к сапрофитам, широко распространены в природе и обычно обитают в почве, компосте, экскрементах животных, разлагающихся овощах и сельскохозяйственных отходах [2, 3]. Мелкий размер спор (~6,6 мкм) способствует аэрогенному распространению

\* Контактное лицо: Фролова Екатерина Васильевна, e-mail: ekaterina.frolova@szgmu.ru

микроспоридий на большие расстояния. Инфицирование происходит при вдыхании спор грибов, также возможно их попадание в желудочно-кишечный тракт вместе с продуктами питания и поражение грибами кожных покровов вследствие травматических повреждений [4].

Мукормикоз у людей преимущественно вызывают микроспоридии родов *Rhizopus*, *Mucor* и *Lichtheimia*. Наиболее распространенный возбудитель этого заболевания – *Rhizopus oryzae*, за ним следуют *Mucor circinelloides* и *Lichtheimia corymbifera*, на которые в совокупности приходится около 70% инфекций [5]. Грибы порядка *Mucorales* обладают тропностью к сосудам, способностью к ангиоинвазии, тромбозу и некрозу тканей, поэтому характерной особенностью инфекции является быстрое развитие гематогенной диссеминации [6].

Главные факторы риска мукормикоза: декомпенсированный сахарный диабет с кетоацидозом, трансплантация органов, химиотерапия, онкогематологические заболевания и повышенное содержание железа в сыворотке крови [7, 8]. При диссеминированной форме заболевания уровень смертности может достигать 95% [6]. Высокие показатели летальности, связанные с мукормикозом, отражают не только агрессивный характер инфекции, но и неспособность иммунной системы успешно противостоять грибковой атаке. В настоящее время эффективность противогрибковых препаратов, а именно липосомального амфотерицина В и изавуконазола, недостаточна (около 60-70%), что является поводом для углубленного изучения особенностей механизмов иммунного ответа к грибам порядка *Mucorales* и, в перспективе, разработки новых лекарственных препаратов и стратегий лечения [9].

В отличие от инвазивного аспергиллеза, знания о взаимодействии патогена с макроорганизмом при мукормикозе все еще очень ограничены. Врожденный иммунитет включает в себя физические (естественные) барьеры, такие как кожные покровы, слизистые оболочки дыхательных путей и пищеварительного тракта. Кератиноциты и эпителиоциты слизистых оболочек совместно с иммунными клетками предотвращают проникновение микробов в организм хозяина. Мукоромикеты обладают способностью преодолевать физические барьеры, чаще всего при вдыхании через респираторный тракт, а также через поврежденную кожу и слизистые оболочки (травмы, ожоги) [10-12]. В случае проникновения патогена в организм человека действие факторов врожденного иммунитета направлено на ограничение распространения микроспоридий и последующую активацию адаптивного иммунного ответа. Одними из наиболее важных клеток врожденного иммунитета являются макрофаги, нейтрофилы и дендритные клетки (DCs). Возникновение мукормикоза связано с неспособно-

стью фагоцитирующих клеток уничтожить грибковые споры и препятствовать прорастанию грибов [13].

Наряду с факторами врожденного иммунитета, клетки и медиаторы адаптивного иммунитета противостоят развитию инфекции. Известно, что иммуносупрессивная терапия ослабляет эффекторные функции иммунных клеток и значительно увеличивает восприимчивость организма к инвазивным микозам [4, 13]. Для понимания патогенеза мукормикоза необходимо изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета, участвующих в уничтожении мукоромикетов, как у иммунокомпетентных людей, так и при ослабленном иммунном ответе.

### 1. Эпителиальные клетки

Люди ежедневно подвергаются воздействию тысяч спор плесени, находящихся в воздухе. Таким образом, альвеолярно-капиллярный барьер дыхательных путей толщиной около 0,5-2 мкм с общей поверхностью более 100 м<sup>2</sup> представляет собой основной путь проникновения грибов в организм человека [4]. Вдыхаемые споры мукоромикетов способны к адгезии к эпителиальным клеткам дыхательных путей и последующему проникновению в них, однако механизмы этого взаимодействия не вполне ясны.

Транскриптомный анализ результатов взаимодействия таких мукоромикетов, как *L. corymbifera*, *R. oryzae*, *R. delemar* и *C. bertholletiae*, с клеточными культурами человеческих эпителиальных клеток (A-549) показал, что все исследованные грибы активировали клеточный рецептор тромбоцитарного фактора роста В (PDGFRB). Блокирование PDGFRB уменьшало повреждение клеточных культур эпителиоцитов A-549, вызванное грибами порядка *Mucorales* [5]. Watkins T. N. с соавт. провели секвенирование транскриптома (RNA-seq) эпителиальных клеток дыхательных путей на ранних стадиях инфекции, вызванной *Rhizopus arrhizus* var. *delemar* (*R. delemar*), используя мышиную модель легочного мукормикоза, и инфицированных *in vitro* человеческих альвеолярных эпителиальных клеток. В результате RNA-seq установлено, что споры *R. delemar* активировали внутриклеточные сигнальные пути эпителиальных клеток посредством взаимодействия с рецепторами эпидермального фактора роста (EGFR). Специфические ингибиторы EGFR (цетуксимаб или гефитиниб) значительно снижали способность *R. delemar* проникать и повреждать эпителиальные клетки дыхательных путей. Введение гефитиниба существенно повышало выживаемость мышей с легочным мукормикозом, снижало проникновение грибов в ткани и ослабляло активацию EGFR. Эти результаты показывают, что PDGFRB и EGFR представляет собой новую мишень, блокирующую инвазию грибов порядка *Mucorales* в альвеолярные эпителиальные клетки [14].

### 2. Макрофаги

Одну из основных ролей в инициации и развитии воспалительных реакций в легких играют макрофаги.

Активированные макрофаги благодаря продукции свободных радикалов, NO, цитокинов, хемокинов и других медиаторов воспаления обезвреживают патогенные микроорганизмы и запускают механизмы врожденного и адаптивного иммунного ответа [15]. Способность вдыхаемых спорангиоспор мукоромицетов прорасти и образовывать гифы в бронхоальвеолярном пространстве имеет решающее значение для развития инфекции, поэтому фагоцитарная активность макрофагов является ключевым событием в локализации инфекции на ранних стадиях заболевания. Существует ограниченное число работ, посвященных изучению роли фагоцитарных клеток в борьбе с мукоромицетами. Установлено, что перед началом роста спорангиоспоры грибов порядка *Mucorales* выходят из фазы покоя, набухают и увеличиваются в размерах [16]. При изучении способности мышиных макрофагов фагоцитировать покоящиеся, набухшие и опсонизированные споры вирулентных и аттенуированных штаммов *Lichtheimia corymbifera* выявили, что споры вирулентного штамма фагоцитируются легче, чем аттенуированный штамм во всех трех состояниях [17]. По мнению авторов, вирулентные споры грибов способны использовать макрофаги для распространения в организме хозяина. Эти выводы согласуются с данными о том, что альвеолярные макрофаги мышей не способны успешно уничтожать споры *R. oryzae*, хотя и сдерживают прорастание гиф [13]. По-видимому, *Rhizopus* spp. подавляют созревание фагосом альвеолярных макрофагов мышей за счет присутствия меланина в поверхностном слое клеточной стенки и изменения метаболизма железа, играющего важную роль в регуляции иммунной защиты [18]. В другом исследовании установлено, что макрофаги *Drosophila melanogaster* слабее фагоцитировали споры и повреждали гифы *R. oryzae* по сравнению с конидиями *Aspergillus fumigatus* [19]. Особенностью *R. oryzae* была способность подавлять экспрессию генов, ответственных за паттерн-распознающие рецепторы (PPRs), взаимодействующие с патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMPs) патогенных микроорганизмов, и кодирующих провоспалительные цитокины [19]. Большой интерес представляют данные о способности *M. circinelloides* вызывать апоптоз макрофагов, рекрутированных в очаг инфекции, что приводило к значительному истощению фагоцитарных клеток [20]. Вероятно, индукция апоптоза макрофагов может представлять собой важный механизм вирулентности мукоромицетов и, следовательно, обеспечивать новую цель для таргетной терапии. В совокупности результаты этих исследований свидетельствуют, что хотя случаи мукоромикоза у иммунокомпетентных хозяев редки, они могут быть обусловлены тем, что макрофаги здорового человека не достаточно эффективны в уничтожении покоящихся спор мукоромицетов [21].

В экспериментальных исследованиях показано, что иммуносупрессивные препараты значительно увеличивают риск летального исхода от мукоромикоза. Это может быть связано с тем, что фагоцитарная способность макрофагов на фоне иммуносупрессии значительно снижена по сравнению с их активностью в нормальном состоянии. Так, глюкокортикостероиды подавляли фагоцитоз спор и повреждение гиф *R. oryzae* макрофагами *D. melanogaster* [19]. При введении кортизона экспериментальным мышам выявили не только снижение способности макрофагов убивать споры *R. oryzae*, но и неспособность ингибировать прорастание спор [13]. Эти наблюдения явно демонстрируют важность фагоцитов в борьбе с мукоромицетами, однако молекулярные механизмы их взаимодействия достоверно неизвестны.

### 3. Нейтрофилы

Нейтрофилы являются важными клетками врожденной иммунной системы и наиболее многочисленными лейкоцитами крови. В ответ на внедрение патогена нейтрофилы рекрутируются из крови в инфицированную ткань, поглощают и переваривают захваченные микроорганизмы с использованием кислород-зависимых и кислороднезависимых механизмов, что приводит к элиминации инфекционного агента. Нейтрофилы проявляют фунгицидную активность, опосредованную продукцией антимикробных пептидов, образованием нейтрофильных внеклеточных ловушек и выработкой широкого спектра цитокинов, хемокинов и других воспалительных медиаторов [22].

Известным фактором риска возникновения мукоромикоза у онкогематологических больных является длительный агранулоцитоз, поэтому важно знать особенности взаимодействия грибов с нейтрофилами [23-25]. В экспериментальных исследованиях при интраназальном инфицировании мышей показано, что только прорастающие, а не покоящиеся споры *R. oryzae* способны рекрутировать нейтрофилы и инициировать воспаление в очаге инфекции. Гифы грибов индуцируют экспрессию TLR2 мРНК в нейтрофилах, что подтверждает участие TLR2 в распознавании *R. oryzae*, а также вызывают экспрессию генов провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-1- $\beta$ . Таким образом, нейтрофилы обладают неодинаковой активностью в отношении различных морфотипов грибов порядка *Mucorales*. Кроме того, установлено, что степень разрушения гиф *R. oryzae* нейтрофилами значительно ниже по сравнению с действием фагоцитов на гифы *A. fumigatus*, что может быть связано с более выраженным подавлением окислительного взрыва вследствие снижения генерации супероксиданиона [26]. Эти данные согласуются с результатами Gil-Lamaigne C. и соавторов, которые отметили, что гифы *R. oryzae* и *R. microsporus* более устойчивы к противогрибковой активности полиморфноядерных лейкоцитов человека по сравнению с *Absidia*

*corymbifera*. Интерферон-гамма (IFN- $\gamma$ ) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) по отдельности или совместно стимулировали нейтрофилы к высвобождению TNF- $\alpha$ , что приводило к повреждению гиф и эрадикации грибов. На основании этих данных предполагают возможность использования IFN- $\gamma$  и GM-CSF в лечении мукормикоза [27].

Моделирование диабета с кетоацидозом при введении экспериментальным животным аллоксана привело к подавлению хемотаксиса нейтрофилов в участки кожи, инфицированные *R. oryzae*, более раннему прорастанию грибковых спор и быстрому распространению инфекции [13]. В недавних исследованиях Gebremariam T. с соавторами установили, что гипергликемия и кетоацидоз нарушают способность нейтрофилов уничтожать грибы порядка *Mucorales* [28]. Таким образом, необходимо дальнейшее изучение механизмов, позволяющих грибам порядка *Mucorales* уклоняться от нейтрофильных атак. В то же время поиск новых препаратов, усиливающих антимикробную активность нейтрофилов, рассматривают как перспективное направление в условиях формирующейся резистентности микромицетов к антимикотикам.

#### 4. Естественные киллеры

Естественные киллеры (NK) играют регуляторную и цитотоксическую роль во врожденном иммунном ответе. NK-клетки опосредуют уничтожение инфицированных и опухолевых клеток посредством нескольких эффекторных механизмов: за счет перфорин / гранзимсодержащих гранул, рецепторов апоптоза и антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. NK-клетки способны убивать не только опухолевые клетки, но и патогенные микроорганизмы. Помимо способности к непосредственному уничтожению, NK-клетки продуцируют различные цитокины, такие как TNF- $\alpha$ , GM-CSF или RANTES (Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted – хемокины, регулируемые, экспрессируемые и секретируемые при активации нормальными T-клетками). Кроме того, NK-клетки высвобождают IFN- $\gamma$ , который повышает фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов и стимулирует созревание DCs. В свою очередь, IL-12, интерфероны 1-го типа (IFN) и IFN- $\gamma$  являются сильными активаторами NK-клеток и опосредуют взаимодействие между макрофагами и NK-клетками, которые часто совместно локализуются в очагах инфекции [29].

Роль NK-клеток в патогенезе мукормикоза является недостаточно изученной. Schmidt S. с соавторами показали, что споры *R. oryzae* не активируют NK-клетки и устойчивы к их фунгицидной активности. Напротив, гифы грибов способны активировать NK-клетки, что приводит к их повреждению в результате высвобождения перфорина. Установлено, что гифы

*R. oryzae* обладают иммуносупрессивным действием за счет подавления секреции NK-клетками таких иммунных молекул, как RANTES и IFN- $\gamma$  [30-32]. В последующих исследованиях следует оценить возможность использования NK-клеток как потенциального инструмента адаптивной иммунотерапии при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Необходимо дальнейшее изучение механизмов, посредством которых NK-клетки повреждают различные грибы, что в конечном итоге может помочь в разработке новых терапевтических стратегий.

#### 5. Эндотелиальные клетки

Ангиоинвазия является отличительной чертой мукоромицетов. Их способность к преодолению эндотелиальной выстилки сосудистой сети приводит к тромбозу и некрозу тканей и гематогенному распространению. Установлено, что *R. oryzae* адгезируется непосредственно на эндотелиальных клетках сосудистой стенки и вызывает повреждение в результате интернализации. Проникновение опосредуется поверхностными рецепторами эндотелиальных клеток GRP78, экспрессия которых значительно усиливается при кетоацидозе и гипергликемическом состоянии [33]. В последующих исследованиях было показано, что экспериментальные животные с кетоацидозом чрезвычайно восприимчивы к интратрахеальному заражению мукоромицетами. Впервые было установлено, что *R. oryzae* проникает в эндотелиальные клетки посредством связывания грибковых белков CotH с рецептором GRP78 эндотелиальных клеток. При этом кетоацидоз оказывал прямое влияние как на экспрессию GRP78, так и на CotH [28]. Авторы сделали вывод о возможном терапевтическом потенциале блокаторов GRP78 в лечении или предотвращении мукормикоза.

#### 6. Тромбоциты

Тромбоциты активно участвуют в поддержании гемостаза организма и процессах тромбообразования. Активированные тромбоциты взаимодействуют с эндотелиальными клетками сосудистой стенки и циркулирующими лейкоцитами, высвобождая растворимые медиаторы, которые могут действовать как на местном, так и на системном уровне. Секреция цитокинов и хемокинов тромбоцитами позволяет расценивать их активацию как неотъемлемый фактор воспаления. Тромбоциты обладают антимикробными свойствами посредством высвобождения из гранул антимикробных катионных белков (например, тромбоцитарного фактора 4 – PF-4), а также проявляют хемотаксические свойства в отношении рекрутирования фагоцитов, опосредуя высвобождение таких цитокинов как IL-1 $\beta$  [34, 35].

Поскольку развитие тромбоза является отличительной чертой мукормикоза, то роль тромбоцитов во врожденном иммунном ответе к грибам порядка *Mucorales* представляет большой интерес. В исследованиях *in vitro* установлено, что адгезия тромбоцитов к

спорам и гифам грибов вызывает их активацию и высвобождение из гранул растворимых медиаторов с микробицидной активностью. Показано, что совместная инкубация микромицетов с тромбоцитами в значительной степени подавляет прорастание гиф *Rhizopus*, *Mucor*, *Lichtheimia*, *Rhizomucor* и вызывает их повреждение [36].

Способность тромбоцитов ингибировать прорастание мукоромицетов предусматривает, что эти «непрофессиональные» иммунные клетки играют важную роль в предотвращении инвазии патогена. Однако выраженный тромбоз приводит к тромбоцитопении, поэтому у таких пациентов не всегда возможно выполнение хирургического вмешательства/биопсии для получения материала и последующего гистологического исследования, что значительно затрудняет диагностику [36]. Несмотря на то, что в предварительных исследованиях показана важная роль тромбоцитов в иммунитете против мукоромицетов, основные механизмы еще предстоит определить. Кроме того, необходимо изучение влияния иммуносупрессии на взаимодействие тромбоцитов и грибов порядка *Mucorales*.

### 7. Дендритные клетки

Дендритные клетки (DCs) локализованы по всему эпителию дыхательных путей, пищеварительного тракта и в кожных покровах. Различные популяции DCs располагаются как выше, так и ниже базальной мембраны эпителия дыхательных путей, что позволяет им одними из первых реагировать на поступающие антигены [37]. DCs считаются высокоспециализированными антиген-презентирующими клетками и являются связующим звеном, обеспечивающим взаимодействие клеток врожденного и адаптивного иммунитета. Распознавание и поглощение микроорганизмов DCs происходит за счет многочисленных паттерн-распознающих рецепторов (PRRs), которые могут обнаруживать грибковые патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMPs). Активация PRRs DCs приводит к синтезу и высвобождению цитокинов и хемокинов, которые привлекают и активируют клетки врожденного иммунного ответа и управляют направленностью адаптивного иммунного ответа [38]. Первоначально DCs представляют антиген наивным CD4<sup>+</sup>Т-хелперам (Th) и инициируют их дифференцировку в различные типы эффекторных клеток. Активация Th определяется связыванием Т-клеточного рецептора (TCR) с антигенным эпитопом, встроенным в молекулу главного комплекса гистосовместимости (МНС) II класса с последующим взаимодействием ко-стимулирующих молекул: CD28 на поверхности Т-клеток с лигандами CD80 (B7-1)/CD86 (B7-2) на антиген-представляющих клетках. После презентации антигена и ко-стимуляции аутокринная продукция IL-2 позволяет Т-хелперам пролиферировать, а особенности

цитокинного микроокружения определяют их дифференцировку в различные клоны Т-хелперов [38].

Сведения о взаимодействии DCs и грибов порядка *Mucorales* очень ограничены. Wurster S. с соавт. изучали *in vitro* взаимодействие moDCs, полученных из моноцитов здоровых доноров, с различными морфотипами грибов порядка *Mucorales* и *Ascomycota*. Инактивированные зародышевые трубки и покоящиеся споры *R. arrhizus* и других патогенных грибов порядка *Mucorales*, в отличие от конидий *A. fumigatus*, стимулировали moDCs к синтезу мРНК IL1 $\beta$  и TNF $\alpha$  и секреции провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, GM-CSF и MCP-1. Более того, споры *R. arrhizus* индуцировали активацию ко-стимулирующих молекул на moDCs, необходимых для инициации дифференцировки специфических Th [39]. В другом исследовании установлено, что в отличие от патогенных грибов (*Histoplasma capsulatum*), условно-патогенные микромицеты (*Aspergillus* и *Rhizopus*) активируют IL-23-продуцирующие DCs человека, что является необходимым условием дифференцировки Th17. Выявлено, что после прорастания спор грибов в гифы в составе клеточной поверхности появляется  $\beta$ -глюкан, связывающийся с dectin-1 DCs, что приводит к продукции IL-23. IL-17 определяет активность нейтрофилов, действуя в качестве хемоаттрактанта и индуцируя выработку противогрибковых дефензинов. Таким образом, появление  $\beta$ -глюкана в наружном слое клеточной стенки гриба значимо для индукции оси IL-23/Th17 и может представлять собой важный фактор, который регулирует защитный иммунитет к условно-патогенным грибам [19].

Для мониторинга врожденного иммунного ответа Belic S. с соавт. использовали модель, состоящую из монослоя эпителиальных клеток аденокарциномы легкого человека (A549) и эндотелиальных клеток легочной артерии человека (HPAEC), культивируемых на разных сторонах мембраны Transwell. Данная модель позволяет проводить анализ клеточного ответа (транскрипционных профилей) или растворимых маркеров (концентрации цитокинов) в каждой камере, при определенных условиях, дополненных moDCs. Как и в предыдущем исследовании, было установлено, что конидии и проросшие гифы *R. arrhizus*, в отличие от *A. fumigatus*, в большей степени стимулировали эпителиальные клетки к секреции IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ , особенно в присутствии moDCs. Незначительные межвидовые различия в характере продукции цитокинов и хемокинов эпителиальными клетками и moDCs наблюдали между изученными видами грибов порядка *Mucorales*. В то время как *R. pusillus* индуцировали заметное высвобождение IL-6 и IL-12p70, *Cunninghamella bertholletiae* вызывали повышенную секрецию CCL2, CCL3 и CCL5 moDCs [40]. Это наблюдение может быть связано с различ-

ным набором PAMPs в составе клеточной стенки грибов [41, 42].

Для оценки степени повреждения эпителиальных клеток, вызванных грибами, определяли лактатдегидрогеназу (ЛДГ) в культуральных супернатантах альвеолярной камеры. Установлено, что *R. arrhizus* и *C. bertholletiae* вызывали значительное повышение концентрации ЛДГ в присутствии mDC. *A. fumigatus* обуславливал минимальное высвобождение ЛДГ. Важно, что добавление mDCs приводило к существенному повышению уровня ЛДГ и усилению проницаемости эпителиального барьера, что указывает на усиление клеточного стресса из-за воспалительных цитокинов и метаболитов мононуклеарных клеток. Наиболее сильный цитотоксический эффект выявлен при добавлении mDC к эпителиальному слою, инфицированному *R. pusillus* (увеличение в 2,2 раза). В проведенных экспериментах подтверждена связь между секрецией цитокинов mDC и усилением разрушения эпителиального барьера, вызванным *R. arrhizus*, по сравнению с *A. fumigatus*. Установлены разительные отличия в реакции человеческих mDC на споры грибов *Ascomycota* и *Mucorales*, что может быть объяснено отсутствием иммунопротективного гидрофобного слоя в спорах последних. Таким образом, особенностью грибов порядка *Mucorales* является их способность индуцировать быстрый и сильный провоспалительный ответ DCs, который усугубляет дисфункцию эпителиального барьера.

Необходимо учитывать, что репертуар DCs легких неоднороден, и его состав претерпевает динамические изменения в зависимости от степени воспаления. При развитии инфекции mDCs генерируются в легких и имеют ключевое значение для провоспалительного цитокинового ответа, фагоцитоза спор грибов и праймирования Th, в то время как обычные DCs и плазматоцитидные DCs являются доминирующими подмножествами в состоянии покоя [43]. Поэтому будущие исследования иммунопатологических процессов, обусловленных грибами порядка *Mucorales*, должны быть направлены на выяснение роли различных подмножеств DCs в инфекционном процессе.

#### 8. Т-клетки

Гомеостаз различных клонов CD4<sup>+</sup>T-клеток, включая Th1/Th2/Th17/Treg, различающихся специфическими профилями цитокинов и внутриклеточными маркерами, играет ключевую роль в организации сбалансированного иммунного ответа, опосредующего толерантность к комменсалам при одновременном устранении инвазивных патогенов. Традиционно считают, что Th1, продуцирующие IFN- $\gamma$ , играют ключевую роль в клиренсе патогенных микроорганизмов и обеспечивают защитный иммунитет против микроскопических грибов. Напротив, Th2, секретирующие IL-4, связаны с повышенной восприимчивостью к грибковым инфекциям. Th17 обладают

мощной продукцией IL-17, который играет центральную роль в инициации острого воспалительного ответа посредством привлечения нейтрофилов и индукции эпителиальных антимикробных пептидов [38, 44].

Помимо механизмов врожденного иммунитета, которые могут оказаться недостаточно эффективными против грибов порядка *Mucorales*, клетки адаптивного иммунитета также способствуют защите от грибковой инфекции [45]. Однако пока крайне мало данных о *Mucorales*-специфических Т-клетках и их количественном различии у здоровых лиц и гематологических пациентов с мукормикозом [39, 46-48].

Так, у здоровых доноров и гематологических пациентов без инвазивного мукормикоза при стимуляции человеческих мононуклеарных клеток периферической крови лизатами грибов порядка *Mucorales* установлено преимущественное высвобождение провоспалительных цитокинов IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ . Это является признаком Th1-поляризованного иммунного ответа, усиливающего фагоцитарную активность и экспрессию маркеров созревания дендритных клеток. Кроме того, Т-клетки, продуцирующие IFN- $\gamma$ , были способны непосредственно вызывать повреждение гиф грибов порядка *Mucorales* [39, 47, 49].

У гематологических больных с риском развития мукормикоза определяли специфичные для плесневых грибов Т-клетки как вспомогательный биомаркер заболевания. Potenza L. с соавт. выявили *Mucorales*-специфичные Т-клетки у гематологических пациентов как при заражении, так и на протяжении всего инфекционного процесса, но не после разрешения инфекции. Антиген (Ag)-специфические Т-клетки преимущественно секретировали IL-4 и IL-10, в меньшей степени – IL-17, что является показателем непротективного Th2-поляризованного иммунного ответа. Эти данные свидетельствуют о том, что присутствие *Mucorales*-специфических Т-клеток тесно связано с развитием мукормикоза и может быть использовано для улучшения диагностики заболевания [47, 48].

В других исследованиях у гематологических больных с риском развития мукормикоза или гистологически подтвержденным диагнозом методом проточной цитометрии определяли пул Ag-активированных CD4<sup>+</sup>T-клеток с повышенной экспрессией CD154 (CD40L). Считают, что CD154 является надежным функциональным маркером активации, так как специфически экспрессируется всеми Ag-активированными CD4<sup>+</sup>T-клетками вскоре после стимуляции клеток крови грибковыми антигенами *in vitro*. Количество Ag-активированных Т-клеток было достоверно выше у пациентов с доказанным мукормикозом, чем у лиц без грибковой инфекции, (чувствительность – 90%, специфичность – 80%). Это может быть основанием для назначения антифунгальной терапии у больных группы риска в случаях,

когда проведение биопсии невозможно и/или результаты микробиологического исследования отрицательны [46, 50].

Так как *Mucorales*-специфические Т-клетки идентифицированы у инфицированных пациентов, то индукция противогрибкового иммунитета за счет активации Th1 является привлекательной стратегией для борьбы с ИМЛ. Было показано, что Т-клетки, отобранные на основании антиген-зависимой экспрессии CD154, являются перспективными кандидатами для адаптивной терапии. Schmidt S. с соавт. использовали экстракты *R. oryzae* для стимуляции мононуклеарных клеток периферической крови здоровых доноров в присутствии различных комбинаций цитокинов [49]. После выделения и культивирования *Mucorales*-специфичные Th1 демонстрируют перекрестную реактивность к антигенам некоторых грибов, повышают противогрибковую активность фагоцитов и обладают значительно меньшей аллореактивностью, чем исходная клеточная фракция.

Castillo P. с соавт. попытались выделить, культивировать и охарактеризовать Т-клетки, специфичные для *R. oryzae*, – наиболее распространенного гриба, обнаруженного у пациентов с мукоормикозом. Предложенный метод, по мнению авторов, является надежным и воспроизводимым, и его можно применять для генерирования достаточного количества активированных *R. oryzae*-специфических Т-клеток и использования в качестве адаптивной иммунотерапии у реципиентов ТГСК [51]. Введение донорских Т-клеток, специфичных к *R. oryzae*, может быть перспективным направлением в терапии пациентов с лимфопенией после восстановления числа нейтрофилов с целью поддержания эффекторных функций

нейтрофилов и макрофагов для предотвращения или лечения ИМЛ.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инвазивные грибковые инфекции с высокой летальностью все чаще становятся проблемой современного здравоохранения. Рост заболеваемости мукоормикозом отмечен во всем мире, в связи с этим понимание механизмов патогенеза инвазивной грибковой инфекции, вызванной мукоормицетами, имеет первостепенное значение в борьбе с высокой смертностью, связанной с грибами этого порядка. Мукоормицеты способны противостоять механизмам врожденного иммунитета, в результате чего быстрое образование гиф позволяет грибам проникать в сосудистую сеть, распространяться и наносить непоправимый ущерб макроорганизму. Кроме того, неспособность иммунокомпromетированной иммунной системы хозяина предотвращать инвазию патогена имеет большое значение в возникновении угрожающей жизни инфекции.

Особенностью грибов порядка *Mucorales* является способность к невероятно эффективному преодолению эпителиальных и эндотелиальных клеток, к выживанию в фагоцитарных клетках и стимуляции дендритных клеток к продукции провоспалительных цитокинов, что приводит к повреждению эпителиального пласта. Определение молекулярных основ взаимодействия клеток иммунной системы и грибов порядка *Mucorales* будет способствовать разработке новых стратегий таргетной терапии и повышению эффективности лечения инфекций, вызванных мукоормицетами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Н.В., Климко Н.Н., Цинзерлинг В.А. Диагностика и лечение инвазивных микозов: современные рекомендации. Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования. 2010; 2 (4): 5-18. [Vasil'eva N.V., Klimko N.N., Cinzerling V.A. Diagnosis and treatment of invasive mycoses: current recommendations. Bulletin of the Saint Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education. 2010; 2 (4): 5-18 (In Russ)].
2. Richardson M. The ecology of the zygomycetes and its impact on environmental exposure. Clin. Microbiol. Infect. 2009; 15: 2–9. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.02972.x.
3. Petrikos G., Skiada A., Lortholary O., et al. Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. Clin. Infect. Dis. 2012; 54 (1): 23-34. doi: 10.1093/cid/cir866.
4. Hassan M.I.A., Voigt K. Pathogenicity patterns of mucormycosis: epidemiology, interaction with immune cells and virulence factors. Medical Mycology. 2019; 57 (Suppl 2): S245-S256. doi:10.1093/mmy/myz011.
5. Chibucos M.C., Soliman S., Gebremariam T., et al. An integrated genomic and transcriptomic survey of mucormycosis-causing fungi. Nat. Commun. 2016; 7, 12218. doi: 10.1038/ncomms12218.
6. Nam Y., Jung, J., Park S.S., et al. Disseminated mucormycosis with myocardial involvement in a renal transplant recipient. Transpl. Infect. Dis. 2015; 17 (6): 890-896. doi:10.1111/tid.12452.
7. Ibrahim A.S., Spellberg B., Walsh T.J., Kontoyiannis D.P. Pathogenesis of mucormycosis. Clin. Infect. Dis. 2012; 54: S16-S22. doi:10.1093/cid/cir865.
8. Sarvestani A.S., Pishdad G., Bolandparvaz S. Predisposing factors for mucormycosis in patients with diabetes mellitus; an experience of 21 years in Southern Iran. Bull Emerg. Trauma 2013; 1(4): 164-170.
9. Natesan S.K., Chandrasekar P.H. Isavuconazole for the treatment of invasive aspergillosis and mucormycosis: Current evidence, safety, efficacy, and clinical recommendations. Infect. Drug Resist. 2016; 9: 291-300. doi: 10.2147/IDR.S102207.

10. *Fanfair R. N., Benedict K., Bos J., et al.* Necrotizing cutaneous mucormycosis after a tornado in Joplin, Missouri, in 2011. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (23): 2214-2225. doi: 10.1056/NEJMoa1204781.
11. *Spellberg B.* Gastrointestinal mucormycosis an evolving disease. *Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 8 (2): 140-142.
12. *Lee S.C., Watkins B.R.B., Li A., et al.* Analysis of a food-borne fungal pathogen outbreak: virulence and genome of a *Mucor circinelloides* isolate from yogurt. *mBio.* 2014; 5 (4): e01390-14. doi: 10.1128/mBio.01390-14.
13. *Ghuman H., Voelz K.* Innate and adaptive immunity to mucorales. *J. Fungi.* 2017; 3 (3): 48. doi:10.3390/jof3030048.
14. *Watkins T., Gebremariam T., Swidergall M., et al.* Inhibition of EGFR signaling protects from mucormycosis. *MBio.* 2018; 9 (4): e01384-18. doi:10.1128/mBio.01384-18.
15. *Лямина С.В., Монастырская Е.А., Малышев И.Ю.* Эффекторные функции альвеолярных макрофагов при заболеваниях легких: роль сурфактантного белка D (SP-D). *Патогенез.* 2008; 6 (1): 9-15. [*Lyamina S.V., Monastyrskaya E.A., Malyshev I.YU.* Effector functions of alveolar macrophages in lung diseases: the role of surfactant protein D (SP-D). *Pathogenesis.* 2008; 6 (1): 9-15 (In Russ)].
16. *Thanh N.V., Rombouts F.M., Nout M.J.* Effect of individual amino acids and glucose on activation and germination of *Rhizopus oligosporus* sporangiospores in tempe starter. *J. Appl. Microbiol.* 2005; 99: 1204-1214. doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02692.x.
17. *Kraibooj K., Park H.R., Dahse H.M., et al.* Virulent strain of *Lichtheimia corymbifera* shows increased phagocytosis by macrophages as revealed by automated microscopy image analysis. *Mycoses.* 2014; 57: 56-66. doi: 10.1111/myc.12237.
18. *Andrianaki A.M., Kyrmizi I., Thanopoulou K., et al.* Iron restriction inside macrophages regulates pulmonary host defense against *Rhizopus* species. 2018; 9 (1): 3333. doi: 10.1038/s41467-018-05820-2.
19. *Chamilos G., Lewis R.E., Hu J., et al.* *Drosophila melanogaster* as a model host to dissect the immunopathogenesis of zygomycosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105: 9367-9372. doi: 10.1073/pnas.0709578105.
20. *López-Muñoz A., Nicolás F.E., García-Moreno D., et al.* An adult zebrafish model reveals that mucormycosis induces apoptosis of infected macrophages. *Sci Rep.* 2018; 8: 12802. doi: 10.1038/s41598-018-30754-6.
21. *Khiste J.A., Bolde S.A., Pandit G.A., Tamboli N.A.S.* Mucormycosis of maxillary sinus in immunocompetent patient masquerading as neoplasm: a case report. *Int. J. Oral Maxillofac. Pathol.* 2013; 4: 50-53.
22. *Desai J.V., Lionakis M.S.* The role of neutrophils in host defense against invasive fungal infections *Curr. Clin. Microbiol. Rep.* 2018; 5 (3): 181-189. doi: 10.1007/s40588-018-0098-6.
23. *Климко Н.Н., Хостелиди С.Н., Бойченко Э.Г. и др.* Мукормикоз у детей с гематологическими и онкологическими заболеваниями в Санкт-Петербурге. *Журнал инфектологии.* 2016; 8 (3): 75-82. [*Klimko N.N., Khostelidi S.N., Bojchenko E.G., et al.* Mucormycosis in children with hematological and oncological diseases in Saint Petersburg. *Journal of Infectology.* 2016; 8(3): 75-82 (In Russ)].
24. *Солопова Г.Г., Мякова Н.В., Шелихова Л.Н. и др.* Мукормикоз у онкогематологических пациентов детского возраста: результаты одноцентрового исследования. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2019; 21 (1): 39-45. [*Solopova G.G., Myakova N.V., Shelihova L.N., et al.* Mucormycosis in children's oncohematological patients: results of a single-center study. *Clinical Microbiology and antimicrobial chemotherapy.* 2019; 21 (1): 39-45 (In Russ)].
25. *Noorifard M., Sekhavati E., Jalaei Khoo H., et al.* Epidemiology and clinical manifestation of fungal infection related to Mucormycosis in hematologic malignancies. *J. Med. Life.* 2015; 8 (Spec Iss 2): 32-37.
26. *Chamilos G., Lewis R.E., Lamaris G., et al.* Zygomycetes hyphae trigger an early, robust proinflammatory response in human polymorphonuclear neutrophils through toll-like receptor 2 induction but display relative resistance to oxidative damage. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008; 52: 722-724. doi:10.1128/AAC.01136-07.
27. *Gil-Lamaignere C., Simitopoulou M., Roilides E., et al.* Interferon-gamma and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor augment the activity of polymorphonuclear leukocytes against medically important zygomycetes. *J Infect Dis.* 2005; 191 (7): 1180-1187. doi: 10.1086/428503.
28. *Gebremariam T., Lin L., Liu M. et al.* Bicarbonate correction of ketoacidosis alters host-pathogen interactions and alleviates mucormycosis. *J. Clin. Invest.* 2016; 126(6): 2280-94. doi: 10.1172/JCI82744.
29. *Vivier E., Tomasello E., Baratin M., et al.* Functions of natural killer cells. *Nat. Immunol.* 2008; 9 (5): 503-510. doi: 10.1038/ni1582.
30. *Schmidt S., Tramsen L., Perkhofer S., et al.* *Rhizopus oryzae* hyphae are damaged by human natural killer (NK) cells, but suppress NK cell mediated immunity. *Immunobiology* 2013; 218, 939-944. doi: 10.1016/j.imbio.2012.10.013.
31. *Schmidt S., Schneider A., Demir A., et al.* Natural killer cell-mediated damage of clinical isolates of mucormycetes. *Mycoses.* 2016; 59 (1): 34-38. doi: 10.1111/myc.12431.
32. *Schmidt S., Tramsen L., Lehrnbecher T.* Natural killer cells in antifungal immunity. *Front Immunol.* 2017; 8: 1623. doi: 10.3389/fimmu.2017.01623. eCollection 2017.
33. *Liu M., Spellberg B., Phan Q.T., et al.* The endothelial cell receptor GRP78 is required for mucormycosis pathogenesis in diabetic mice. *J. Clin. Investig.* 2010; 120(6): 1914-24. doi: 10.1172/JCI42164.

34. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 2. Тромбоциты как участники иммунных реакций. Медицинская иммунология. 2019; 21 (1): 9-20. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-9-20.[Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Jakuceni P.P. Platelets as activators and regulators of inflammatory and immune responses. Part 2. Platelets as participants in immune responses. Medical immunology. 2019; 21(1): 9-20. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-9-20 ( In Russ)].
35. Morrell C.N., Aggrey A.A., Chapman L.M., Modejski K.L. Emerging roles for platelet as immune and inflammatory cells. Blood. 2014; 123: 2759-2767. doi: 10.1182/blood-2013-11-462432.
36. Perkhofers S., Kainzner B., Kehrel B.E., et al. Potential antifungal effects of human platelets against Zygomycetes in vitro. J. Infect. Dis. 2009; 200, 1176-1179. doi:10.1086/605607.
37. Грищенко Е.А. Дендритные клетки дыхательных путей и аллергические заболевания Аллергология и иммунология в педиатрии. 2015; 3 (42): 19-28. [Grishchenko E.A. Respiratory dendritic cells and allergic diseases. Allergology and immunology in Pediatrics 2015; 3 (42): 19-28 (In Russ)].
38. Dewi I.M.W., Van de Veerdonk F.L., Gresnigt M.S. The multifaceted role of t-helper responses in host defense against *Aspergillus fumigatus*. J Fungi (Basel). 2017; 3 (4): 55. doi: 10.3390/jof3040055.
39. Wurster S., Thielen V., Weis P., et al. Mucorales spores induce a proinflammatory cytokine response in human mononuclear phagocytes and harbor no rodlet hydrophobins. Virulence. 2017; 8 (8): 1708-1718. doi: 10.1080/21505594.2017.1342920.
40. Belic S., Page L., Lazariotou M., et al. Comparative Analysis of Inflammatory Cytokine Release and Alveolar Epithelial Barrier Invasion in a Transwell Bilayer Model of Mucormycosis. Front Microbiol. 2019; 8(9): 3204. doi: 10.3389/fmicb.2018.03204.
41. Roilides E., Antachopoulos C., Simitsopoulou M. Pathogenesis and host defense against *Mucorales*: the role of cytokines and interaction with antifungal drugs. Mycoses. 2014; 57 (Suppl. 3): 40-47. doi:10.1111/myc.12236.
42. Lecoite K., Cornu M., Leroy J. Disclaimer polysaccharides cell wall architecture of *Mucorales*. Front Microbiol. 2019; 10: 469. doi: 10.3389/fmicb.2019.00469.
43. Kim T. H., Lee H.K. Differential roles of lung dendritic cell subsets against respiratory virus infection. Immune Netw. 2014; 14(3): 128-37. doi: 10.4110/in.2014.14.3.128.
44. Li Z., Lu G., Meng G. Pathogenic fungal infection in the lung. Front Immunol. 2019; 3 (10): 1524. doi.org/10.3389/fimmu.2019.01524.
45. Roilides E., Simitsopoulou M. Immune responses to *Mucorales* growth forms: do we know everything? Virulence. 2017; 8 (8): 1489-491. doi:10.1080/21505594.2017.1368942.
46. Bacher P., Steinbach A., Kniemeyer O., et al. Fungus-specific CD4(+) T cells for rapid identification of invasive pulmonary mold infection. Am. J. Respir. Crit. Care. Med. 2015; 191: 348-352. doi: 10.1164/rccm.201407-1235LE.
47. Potenza L., Vallerini D., Barozzi P., et al. Mucorales-specific T cells in patients with hematologic malignancies. PLoS ONE. 2016; 11:e0149108. doi.org/10.1371/journal.pone.0149108
48. Potenza L., Vallerini D., Barozzi P., et al. Mucorales-specific T cells emerge in the course of invasive mucormycosis and may be used as a surrogate diagnostic in high risk patients. Blood. 2011; 118: 5416-5419. DOI: 10.1182/blood-2011-07-366526
49. Schmidt S., Tramsen L., Perkhofers S., et al. Characterization of the cellular immune responses to *Rhizopus oryzae* with potential impact on immunotherapeutic strategies in hematopoietic stem cell transplantation. J. Infect. 2012; 206: 135-139. doi: 10.1093/infdis/jis308.
50. Steinbach A., Cornely O.A., Wisplinghoff H. et al. Mould-reactive T cells for the diagnosis of invasive mould infection-A prospective study. Mycoses. 2019; 62: 562-569. doi: 1.1111/myc.12919.
51. Castillo P., Wright K.E., Kontoyiannis D.P., et al. A new method for reactivating and expanding T cells specific for *Rhizopus oryzae*. Mol. Ther. Methods Clin. Dev. 2018; 14 (9): 305-312. doi: 10.1016/j.omtm.2018.03.003.

Поступила в редакцию журнала 03.07.2020

Рецензент: Шадривова О.В.

## МИКРОСПОРИЯ: СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ПРОБЛЕМЕ (ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

<sup>1</sup>Медведева Т.В. (дерматовенеролог)\*, <sup>2</sup>Леина Л.М. (доцент кафедры), <sup>1</sup>Чилина Г.А. (зав. лаб.), <sup>3</sup>Петунова Я.Г. (зав. орг.-метод. отделом), <sup>1</sup>Пчелин И.М. (н.с.)

<sup>1</sup>НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет; <sup>3</sup>Городской кожно-венерологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия

*Микроспория относится к числу широко распространенных поверхностных микозов, особенно в педиатрической практике. В обзоре литературы приведены данные об эпидемиологии, этиологии, диагностике, клинических проявлениях и лечении данного заболевания. Представлены собственные клинические наблюдения атипичных проявлений микроспории.*

**Ключевые слова:** микроспория, атипичные случаи, классификация атипичных вариантов, дерматомикозы

## MICROSPORIA: CURRENT UNDERSTANDING OF THE PROBLEM (DESCRIPTION OF CLINICAL CASES AND LITERATURE REVIEW)

<sup>1</sup>Medvedeva T.V. (dermatovenereologist), <sup>2</sup>Leina L.M. (associate professor of the department), <sup>1</sup>Chilina G.A. (head of the laboratory), <sup>3</sup>Petunova Ya.G. (head of the org-methodology department), <sup>1</sup>Pchelin I.M. (scientific collaborator)

<sup>1</sup>Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; <sup>2</sup>St.Petersburg State Pediatric Medical University; <sup>3</sup>City Skin and Venereological Dispensary, St. Petersburg, Russia

*Microsporia is one of the widespread superficial mycoses, especially in pediatric practice. The literature review provides data on the epidemiology, etiology, diagnosis, clinical manifestations and treatment of this disease. Own clinical observations of atypical manifestations of microsporia are presented.*

**Key words:** microsporia, atypical cases, classification of atypical variants, dermatomycosis

Микроспория – заболевание из группы поверхностных микозов, поражающее кожу и ее придатки, вызываемое грибами рода *Microsporum*. Согласно

современным таксономическим представлениям, в роде *Microsporum* насчитывается только три вида: *M. audouinii*, *M. canis*, *M. ferrugineum* [1]. Все перечисленные патогены являются филогенетически близкородственными дерматомицетами в комплексе *Arthroderma Otae* [2]. Они занимают различные экологические ниши: *M. audouinii* и *M. ferrugineum* – антропофильные грибы, *M. canis* – зоофильный возбудитель. Все три представителя рода *Microsporum* могут вызывать заболевания у людей с развитием определенной клинической картины, передача может осуществляться от человека к человеку или от животного к человеку. Видовая идентификация данных патогенов представляет интерес с точки зрения эпидемиологии [3].

Считают, что заболеваемость микроспорией, равно как и любым другим поверхностным микозом, зависит от возраста, расовой принадлежности [4], участия в миграционном процессе, рода занятий, гигиенических навыков населения, социально-экономического статуса, высокой плотности населения, плохих санитарных условий (например, ограниченное водоснабжение), географических и климатических условий, занятий спортом, туризмом, образа жизни, приема ряда лекарственных препаратов (антибактериальные препараты широкого спектра действия, глюкокортикостероиды, иммуносупрессанты), наличия сопутствующих заболеваний (анемия, диабет, трансплантация органов и т.п.) [5].

Общеизвестным является факт, что микроспорией болеют преимущественно дети. Так, доля детского населения среди заболевших с 2014 по 2018 гг. в г. Санкт-Петербурге составила от 60,2 до 68,3% [6].

Данные по гендерной дифференциации при микроспории чрезвычайно разноречивы: в ряде исследований, девочки болеют чаще мальчиков, согласно другим публикациям, мальчики поражаются чаще. По результатам крупного наблюдения, проведенного в Австрии, существенных различий в распространенности данного микоза по половой принадлежности нет [7].

*M. canis* впервые был описан Bodin E. в 1902 г., при этом ему было дано название *M. lanosum*. В 1908 г. Raymond Sabouraud переименовал данный патоген в *M. canis*. Зоофильный возбудитель *M. canis* является наиболее значимым по частоте встречаемости на территории Российской Федерации [8]. В качестве самых распространенных переносчиков данного патогена выступают кошки и собаки (в том числе такие популярные декоративные породы, как йоркширский терьер, джек-рассел-терьер и пекинес) [9]. Как правило, считается, что переносчиками микроспории, вызванной *M. canis*, являются безнадзорные животные. В этой связи представляет интерес небольшое исследование, проведенное отечественными учеными. Были изучены образцы кожных чешуек и шерсти 50 домашних животных (34 кошки и 16 собак). Образцы

\* Контактное лицо: Медведева Татьяна Владимировна, e-mail: medvedeva43@mail.ru

получены у животных, хозяева которых обращались в ветеринарную клинику в связи с проблемами, не связанными с поражением кожного покрова и шерсти. При проведении культуральных исследований у 17,7 % домашних кошек был выделен *M. canis*. Таким образом, показано, что даже домашние животные представляют потенциальную опасность заражения человека [10].

Помимо кошек и собак, в литературе имеются указания и на более редко встречающихся переносчиков возбудителя – обезьян, черно-бурых лисиц, разнообразных мелких грызунов и даже птиц и слонов [11-13]. Существует определенная взаимосвязь между возрастом животного и его инфицированием: было обследовано 405 больных микроспорией кошек – 81,7% из них были младше года, а 18,3% – старше 1 года [14]. Полученные данные свидетельствуют о необходимости более тесного альянса врачей-дерматологов с ветеринарной службой, разработки ряда совместных мероприятий, позволяющих снизить заболеваемость микроспорией, вызванной *M. canis*.

Гриб *M. canis* для широкого распространения в человеческой популяции нуждается в значительном естественном резервуаре в живой природе (кошки, собаки и т.д.), так как патогенность его при передаче от человека к человеку существенно снижается [15].

В России микроспория относится к числу часто регистрируемых заболеваний микотической природы. В последние годы наиболее высокая распространенность данного микоза отмечена в Курской области (по данным за 2018 г. – 114,9 случая на 100 тысяч населения), в Оренбургской области (100,9), Брянской (89,6), Астраханской (84,7) и Волгоградской (82,8) областях. Минимальное количество зарегистрированных случаев выявлено в России на территории Ямало-Ненецкого автономного округа (15,4), Чеченской республики (15,9), Кабардино-Балкарии (16,4) и Смоленской области (21,9). По данным за 2018 г., на территории Северо-Западного Федерального округа заболеваемость микроспорией составила 30,1 на 100 тысяч населения, а в Санкт-Петербурге – 29,7 [6].

Помимо России, *M. canis* широко распространен в странах Средиземноморья, в Центральной Европе [16, 17]. В таких мегаполисах Китая, как Пекин, Гуанчжоу и Чунцин, *M. canis* выделяется приблизительно в 80% случаев в качестве возбудителя микозов волосистой части головы [18]. В публикациях из стран Средней Азии, в частности Узбекистана, также отмечают значительное увеличение доли *M. canis* среди других возбудителей поверхностных микозов. Так, по данным И.Т. Карабаевой, в 1975 г. на долю *M. canis* приходилось только 3,2%, в 1989 г. – 32%, а за период с 1995 по 2000 гг. – 44% [19]. В Санкт-Петербурге *M. canis* также является доминирующим возбудителем микроспории. В работе Е.В. Касаткина с соавт. (2019) показано, что данный патоген за пери-

од с 2016 по 2018 гг. выявляли в 97% случаев микроспории [20].

Основными факторами патогенности грибов рода *Microsporum* являются ферменты-протеазы (кератиназы). В *M. canis* были индуцированы как минимум три гена – SUB 1, SUB 2 и SUB 3, кодирующие сериновые протеазы, связанные с инфекцией [21, 22]. Инфекция *M. canis* вызывает быструю секрецию IL-1B как *in vitro*, так и *in vivo*, и это зависит от активации воспалительных процессов, внутриклеточных мультипротеиновых комплексов, которые контролируют высвобождение IL-1B [21, 23].

В масштабном исследовании, проведенном в 19 европейских странах (были задействованы 92 микологические лаборатории) за период с 1987 по 1997 гг., показано, что *M. canis* как возбудитель микозов волосистой части головы являлся доминирующим среди других патогенов в Европе, хотя доля антропофильных грибов (в том числе и *M. audouinii*) постепенно увеличивается в этиологической структуре трихомикозов [21].

Антропофильные возбудители, к которым относятся *M. audouinii* и *M. ferrugineum*, могут вызывать вспышку микроспории в семье, детском коллективе, стационаре. Возможно заражение не только от человека к человеку, но и опосредованное – через предметы, которыми пользовался больной (постельные принадлежности, полотенца, мягкие игрушки, головные уборы, расчески и т.п.). В литературе имеются описания редких случаев выделения *M. audouinii* от животных – серых крыс (*Rattus norvegicus*) в Индии и собак в Нигерии [24, 25].

*M. audouinii* был исторически первым представителем рода *Microsporum* (описанным в 1843 г. Grubi D.), современное наименование он получил в 1902 г. [26]. Немногим более 100 лет назад патогенный гриб *M. audouinii* (наряду с такими дерматомицетами, как *Epidermophyton floccosum* и *Trichophyton schoenleinii*) являлся основным возбудителем поверхностных микозов [27]. Об этом свидетельствуют данные Karrenberg С., проведшего исследование этиологического спектра возбудителей микозов кожи и ее придатков в Гамбурге с 1926 по 1928 гг.: при общем количестве позитивных культур – 212, в 53 случаях (25%) был получен рост *M. audouinii* (по общему количеству выделенных культур его опередил только *E. floccosum* – 43,4%), тогда как *M. canis* был выделен только в 0,9% (2 культуры). Заболевание, вызываемое *M. audouinii*, носило эпидемический характер и в связи с тем, что преимущественно было распространено у детей, называлось «болезнью сиротства» [28]. В период с 1930 по 1950 гг. *M. audouinii* (наряду с *T. schoenleinii*) был преимущественным агентом, вызывающим микоз волосистой части головы в Великобритании, Северной и Западной Европе и Америке [29]. К середине XX века антропофильный возбудитель *M. audouinii* на террито-

рии Европы и СССР был вытеснен зоофильным грибом *M. canis*. В настоящее время *M. audouinii* является эндемичным для ряда стран Африки (Кения, Малави, Эфиопия, Нигерия и Уганда), также опубликовано наблюдение о выделении данного патогена в Бразилии [30-33]. В последние два десятилетия микоз, вызванный *M. audouinii*, опять стали регистрировать в европейских странах, причем заболевания носили характер эпидемических вспышек – в Бельгии и Германии [28, 34], а также в Швейцарии [35, 36]. Наличие данных эпидемических вспышек объясняется эмиграционными волнами из стран Африки, где данный патоген сохраняет свою значимость [37].

Антропофильный возбудитель *M. ferrugineum* в настоящее время имеет ограниченную распространенность – описаны эпидемические очаги в Восточном и Северном Китае, Таиланде, на Балканах, в Нигерии, Японии, Корее [38,3 9]. По данным на конец XX века, в Европе этот возбудитель выделяли чрезвычайно редко: в исследовании, проведенном на территории 19 европейских стран (92 микологические лаборатории), в течение 10 лет (с 1987 по 1997 гг.) было выделено только 4 культуры *M. ferrugineum* (при общем количестве культур – 3671) [21]. Публикации последних лет, связанные с *M. ferrugineum*, весьма немногочисленны и описывают, как правило, небольшое количество наблюдений [38, 40]. В этой связи особый интерес представляет статья, где приведено 138 случаев микозов волосистой головы в Таиланде, вызванных данным патогеном [41].

Считается, что в развитии клинической картины микроспории, вызванной антропофильными возбудителями (*M. audouinii*, *M. ferrugineum*), существуют определенные особенности: «стертость» клинической картины, что затрудняет своевременную постановку диагноза, и связанная с этим хронизация течения кожного процесса. С точки зрения эпидемиологии, данным патогенам свойственно вызывать эпидемические вспышки. Отмечается постепенное увеличение заболеваемости в городах с плотно проживающим населением [35, 41].

Лабораторная диагностика микроспории в подавляющем большинстве случаев ограничивается проведением классических микологических тестов: микроскопия кожных/ногтевых чешуек и волос, предварительно обработанных гидроксидом калия (КОН-тест), в совокупности с посевом на среду Сабуро или другой агар (например Dermasel) – культуральное исследование. Возможность проведения флуоресцентного окрашивания (Calcofluor, Blankophor) в значительной мере улучшает визуализацию грибковых структур и повышает результативность лабораторного исследования.

Оптимальным температурным режимом для выращивания дерматомицетов рода *Microsporum* является 28 °С, время культивации составляет в среднем 10-14 суток.

*M. canis* – колонии плоские бархатисто-ворсистые, ворс расположен по радиусу. Цвет колоний – от светло-бежевого до бежево-кремового, у некоторых штаммов – белый. Обратная сторона – от светло-желтой до рыжево-желтой. Макроконидии удлиненные, веретеновидные, с сужениями на обоих концах, имеют 6-12 перегородок, толстую клеточную стенку. Свободный конец заострен или изогнут в виде «крючка». Микроконидии встречаются редко (Рис. 1, 2).



Рис.1. Культура патогена *M. canis* на агаре Сабуро.



Рис.2. Микроскопическая картина культуры *M. canis*. Множественные макроконидии в виде «веретена». Увеличение – 400 х.

*M. audouinii* – колонии медленно растущие, стелющиеся, гладкие, плотные, с матовой поверхностью, лучистыми краями. Цвет колоний может меняться от серо-белого до рыжево-белого, очень редко бывает ржавым. С обратной стороны колонии могут иметь

лососево-розовый или персиковый цвет. *M. audouinii* продуцирует гифы и, редко, макро- и микроконидии. При микроскопии образует гребенчатые гифы с редкими терминальными или интеркалярными хламидоспорами.

*M. ferrugineum* – колонии гладкие, плоские, иногда морщинистые, бело-желтого или кремового цвета, могут давать темно-коричневый пигмент. Мицелий широкий, хламидоспоры в значительном количестве. Макроконидии и микроконидии обычно отсутствуют.

К сожалению, проведение классических микологических тестов не лишено ряда недостатков: при проведении КОН-теста можно столкнуться как с ложноположительными (артефакты), так и с ложноотрицательными результатами, а время проведения культурального исследования может быть слишком длительным (10-14 и более дней). В процессе проведения выращивания культуры гриба могут появляться нетипичные морфологические характеристики, что также затрудняет правильную диагностику.

Используемые в последние годы методы молекулярной биологии позволяют ускорить процесс определения гриба, а также повысить специфичность и чувствительность диагностики. Для диагностики микроспории методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) доступны как коммерческие наборы [42, 43], так и наборы с открытым дизайном [44, 45]. В Российской Федерации выпускается тест-система «Реал-Бест-Вет ДНК *Microsporum*», позволяющая выявлять ДНК *M. canis*, *M. ferrugineum* и *M. audouinii* методом ПЦР в режиме реального времени. В целом чувствительность ПЦР тест-систем примерно на 30% превышает чувствительность методов культуральной диагностики. Специфичность ПЦР тест-систем для выявления дерматомицетов, в частности *Microsporum* spp., варьирует и может быть повышена с использованием ДНК-микрочипов [46].

Для быстрого выявления видов дерматомицетов в течение 24-х часов непосредственно из клинических образцов в настоящее время используют метод ПЦР-ИФА [33]. К «золотым стандартам» видовой диагностики микромицетов относят методику ДНК-секвенирования.

В качестве способа дополнительной диагностики микроспории применяют лампу Вуда, используемую в клинической практике с 1925 г. Она позволяет диагностировать вовлечение в патологический процесс придатков кожи (волосные фолликулы, волосы, ногтевые пластинки), при осмотре которых наблюдается характерное зеленое (изумрудное) свечение. Необходимо помнить о том, что существуют нефлуоресцирующие варианты *M. canis* и *M. audouinii*, поэтому данный диагностический тест не может являться абсолютным [12, 47].

При наличии характерной клинической картины установление диагноза не составляет труда. В случае

поражения гладкой кожи имеются эритематозные пятна округло-овальной формы с достаточно четкими границами, представленными валиком, состоящим из гиперемированных папулезных элементов; в центре очага нередко отмечается шелушение. В волосистой части головы имеются, как правило, небольшие очаги (диаметром 0,5-1-2 см) разрежения волос с обильным шелушением, волосы в очагах могут быть обломаны на уровне 6-8 мм над поверхностью кожи или отсутствовать. В этом случае в целях адекватной диагностики используют лампу Вуда.

В зависимости от того, вовлечена в инфекционный процесс только кожа или ее придатки, принято выделять: микроспорию гладкой кожи, микроспорию волос (пушковых, щетинистых или длинных – поражение волосистой части головы) и редко встречающуюся микроспорию ногтевых пластинок. Чаще всего трудности в установлении диагноза микроспории связаны с нетипичным течением инфекционного процесса. Наш коллектив авторов [48] в 2012 г. предложил следующую классификацию атипичных форм микроспории:

- 1) инфильтративно-нагноительная (наиболее часто встречающаяся);
- 2) экссудативно-воспалительная;
- 3) розацеа-подобная;
- 4) себорейная (частный вариант – по типу асбестовидного лишая);
- 5) с нетипичной локализацией (микроспорийный онихомикоз и поражение щетинистых волос);
- 6) фолликулярная;
- 7) псориазиформная;
- 8) «трансформированный» вариант микроспории (с измененной клинической картиной в результате использования топических кортикостероидов).

За рубежом в последнем случае пользуются терминами «атипичная дерматофития» и «*tinea incognita*». В последние годы мы отмечаем значительное возрастание количества «трансформированных» форм микроспорийной инфекции [49].

Приводим наши наблюдения атипичного течения микроспории.

**Наблюдение 1.** В марте 2016 г. проконсультирована девочка 7 лет с жалобами на поражение волосистой части головы. Больна с осени 2013 г., когда на голове появился очаг шелушения и выпадения волос. В анамнезе – хронический гломерулонефрит и хроническая почечная недостаточность с ноября 2011 г., по поводу чего получала преднизолон в дозе 2 мг/кг. После его отмены через 1,5 месяца на фоне ОРВИ наступило обострение гломерулонефрита, и преднизолон был назначен вновь. В июле 2013 г. развился отечный синдром. Выявлена гормонорезистентность, в связи с чем была начата терапия циклоспорином А (в дозе 4,4 мг/ кг), длительность курса – 2 года 4 месяца. Высыпания на волосистой части головы появились на фоне лечения циклоспорином. Девочка неод-

нократно осмотрена дерматологами, были выставлены диагнозы «псориаз» и «себорейный дерматит». Состояние кожи ухудшалось, на волосистой части головы появились болезненные гнойнички и уплотнения. При осмотре на волосистой части головы имелись множественные очаги поредения волос без четких границ. В очагах на фоне умеренной эритемы и незначительного шелушения отмечали большое количество болезненных узелков и фолликулярных пустул, после разрешения которых осталась легкая атрофия кожи. При проведении микологических тестов были получены 2 культуры дерматомицетов с различными характеристиками: одна была представлена колонией беловато-кремового цвета, мучнисто-ворсистой, при ее микроскопии имелось большое количество макроконидий; другая – бархатистая, белого цвета, при микроскопии – макро- и микроконидии отсутствовали. При проведении метода секвенирования ДНК на последовательность региона ITS обе культуры были определены как *M. canis*. Установлен диагноз: хроническая микроспория, вызванная *M. canis*, атипичное течение (себорейный вариант). Длительность (около 3-х лет), хронизация и атипичность течения микроспорийной инфекции в данном случае связана с наличием сопутствующей патологии (нефротический синдром) и проведением лечения кортикостероидами и цитостатическими средствами. Особенностью данного наблюдения было выделение двух культур гриба *M. canis*, имеющих различные характеристики (Рис. 3).



Рис. 3. Хроническая (более трех лет) микроспория волосистой части головы у ребенка 7 лет.

**Наблюдение 2.** Пациентка Д., 26 лет, обратилась в консультативно-диагностическое отделение НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина в июне 2014 г. с жалобами на значительное ухудшение общего самочувствия, наличие высыпаний в области внутренней поверхности бедер, лобка. Больна с конца февраля 2014 г., когда появилось пятно на внутренней поверхности бедра, по поводу которого обратилась к дерматологу по месту жительства. Был установлен диагноз «экзематид», назначена содержащая

кортикостероид мазь – состояние без улучшения. Появились гнойничковые элементы, в связи с чем диагноз был изменен на «пиодермию». Микологические тесты не проводили. В течение четырех месяцев женщина получала курсы антибактериальных, антигистаминных, десенсибилизирующих средств, витамины, что обеспечивало временную ремиссию, но затем кожный процесс вновь рецидивировал. Пациентка была направлена в НИИ медицинской микологии для проведения биопсии с последующим гистологическим исследованием с предположительным диагнозом «атипичная пиодермия». При осмотре: на коже лобка, внутренней поверхности бедер выявлены множественные гиперемированные, болезненные на ощупь, узловатые образования, при надавливании на часть которых выделялась гнойно-геморрагическое содержимое, имелись множественные комедоны. При проведении микологических тестов от 11.06.14 г.: при микроскопии элементы гриба не обнаружены, при посеве – рост *M. canis*. Установлен диагноз «микроспория, атипичная, инфильтративно-нагноительная форма» (Рис. 4).



Рис. 4. Атипичная инфильтративно-нагноительная форма микроспории у женщины 26 лет.

Особенностью данного наблюдения была своеобразная трансформация течения микотического процесса под действием топических кортикостероидных средств, что изменило типичную клиническую картину микроспории.

В лечении микроспории используют системные и наружные антифунгальные средства. Показаниями для назначения средств общего действия является значительная распространенность кожного процесса, вовлечение в патологический процесс придатков кожи (волосяных фолликулов, волос, ногтей пластинок), неэффективность длительно проводимой топической терапии. Правильная оценка характера и объема поражения чрезвычайно важна, так как она определяет назначаемую терапию.

Поиск эффективных методов лечения микроспории (в первую очередь – микроспории волосистой части головы) – это одна из драматических страниц

медицины. Такие топические методы терапии, которые использовали до внедрения в клиническую практику гризеофульвина, как рентгенэпиляция, применение уксусно-кислого таллия и эпилина, обладали значительным количеством побочных эффектов как в процессе лечения (головные боли, галлюцинации, развитие тяжелых дерматитов, изъязвлений), так и после его окончания (рубцовая атрофия, стойкое облысение, в последующем – появление базалиом) [50]. До появления в клинической практике в 1958 г. гризеофульвина, по сути дела, не было эффективного и, в то же время, безопасного метода лечения микроsporии с поражением придатков кожи. Гризеофульвин – антибиотик из класса гризанов, продуцируется грибом *Penicillium nigricans (griseofulvum)*, выделен в 1939 г., для лечения микозов у людей его начали применять с 1958 г. Препарат обладает фунгистатическим действием, высокой кератинотропностью. Спектр действия гризеофульвина достаточно узок – включает в себя только грибы-дерматомицеты. В СССР получен в 1960 г. В настоящее время в России выпускается в таблетированной форме по 0,125 мг; за рубежом есть форма выпуска в виде суспензии, высокодисперсных и ультравысокодисперсных вариантах. Появившийся значительно позднее (первое применение в клинической практике – в 1989 г.) системный антифунгальный препарат тербинафин также имеет определенную противогрибковую активность в отношении дерматомицетов рода *Microsporum*. Проводили многочисленные попытки применения тербинафина при лечении микроsporии. Отечественные исследователи предлагали удваивать дозу тербинафина при терапии микроsporии волосистой части головы [51]. По данным Кокрановской библиотеки, в случае выделения *M. canis* гризеофульвин является лучшим выбором по сравнению с тербинафином [52]. Наш клинический опыт также свидетельствует, что гризеофульвин более эффективен по сравнению с тербинафином в лечении микроsporии.

**Наблюдение 3.** Мальчик, 9 лет, консультирован в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина в конце декабря 2018 г., обращение с жалобами на наличие болезненных гнойничков в волосистой части головы, расположенных преимущественно в теменной области. Болен с начала сентября 2018 г., осмотрен дерматологом в Великобритании, назначены топические антифунгальные средства, лечение – без эффекта, появились гнойнички. Установлен диагноз «kegion Celsi», назначен системный тербинафин, лечение в течение трех месяцев – без эффекта. Культуральное исследование не выполняли. Обследование в НИИ медицинской микологии: при микроскопии – грибы не найдены, получена культура *M. canis*. При осмотре под лампой Вуда – изумрудное свечение отдельных волосяных фолликулов. Установлен диагноз: микроспория волосистой части головы, атипичная, инфильтративно-нагноительная форма. Назначен

гризеофульвин из расчета 22 мг /кг веса (суточная доза). Через месяц после начала приема отмечена значительная положительная динамика – отсутствие гнойничков, исчезновение болезненности. При проведении через 6 недель от начала терапии гризеофульвином контрольных микологических тестов – грибы не обнаружены (Рис. 5). В данном наблюдении более короткая продолжительность приема гризеофульвина (1,5 мес.) оказалась значительно эффективнее лечения тербинафином в течение 3-х месяцев.



(а)



(б)

Рис. 5. Внешний вид волосистой части головы у мальчика 9 лет до лечения гризеофульвином (а) и через 6 недель после начала терапии гризеофульвином (б).

Помимо вышеперечисленных средств (гризеофульвина, тербинафина), в качестве системных препаратов II ряда могут быть использованы флуконазол и итраконазол. Последний в России разрешен к применению у детей только с 12 лет.

Топические антифунгальные препараты, применяемые в лечении микроsporии, чрезвычайно многочисленны. Это средства из группы аллиламинов (тербинафин, нафтифин), препараты азолового ряда (клотримазол, изоконазола нитрат, кетоконазол, бифоназол, миконазол, эконазол, сертоконазол). В арсенале врачей сохраняются и «традиционные» средства – настойка йода 5%, мази, содержащие серу, деготь, салициловую кислоту и так далее.

«Необычные» группы, болеющие микроспорией, представлены детьми до 1 года, пожилыми людьми и

беременными женщинами. При выборе схемы лечения у перечисленных выше категорий пациентов требуется модификация стандартных методов терапии. Пожилые пациенты привержены длительному самолечению, что обуславливает «отсроченное» обращение к врачу и, как правило, развитие атипичной клинической картины. В ряде случаев наличие сопутствующей дерматологической патологии значительно затрудняет постановку правильного диагноза. Так, в наблюдении Vastarella M. с соавт. описана женщина 79 лет, на протяжении нескольких лет страдающая дерматомиозитом (по данным Tilstra J.S. с соавт., волосистая часть головы при дерматомиозите может вовлекаться от 28% до 82 % случаев), с жалобами на покраснение кожи волосистой части головы, обильное шелушение и значительное выпадение волос. Проведение трихоскопической диагностики в комплексе с микологическими тестами позволило установить диагноз «микроспория волосистой части головы» (получена культура *M. canis*) и провести адекватное лечение [53, 54]. В группе пожилых лиц микозами волосистой части головы чаще страдают женщины постменопаузального периода. При осуществлении терапии микозов у пожилых пациентов приоритетным (при возможности) должно являться назначение наружного лечения (причем желательно, чтобы количество аппликаций было минимальным, а продолжительность курса – достаточно короткой). При выборе системного антифунгального препарата у лиц пожилого возраста необходимо учитывать наличие сопутствующей патологии и проблему межлекарственных взаимодействий; требуется проведение мониторинга в процессе лечения гемограммы и основных биохимических показателей сыворотки крови (АЛТ, АСТ, мочевины, креатинин, остальные – по показаниям).

**Наблюдение 4.** Пациентка, 67 лет. Больна около 1,5 месяцев. При обращении к дерматологу по месту жительства с жалобами на наличие высыпаний на лице диагностирован «дерматит», рекомендован кортикостероидный крем. Микологические тесты не проводили. Дома есть три кошки, последнюю женщина подобрала на улице около 2-х месяцев назад. При обращении в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина в октябре 2018 г. выполнены стандартные микологические тесты: при микроскопии кожных чешуек обнаружен мицелий гриба, получена культура *M. canis*. При осмотре под лампой Вуда – свечение отсутствует. Установлен диагноз: «микроспория гладкой кожи». Рекомендованы наружные антифунгальные средства. Затруднения в диагностике вызвал нехарактерный возраст пациентки (67 лет); пренебрежение микологическими тестами и недооценка эпидемиологического анамнеза, что в итоге привело к ошибке в диагностике (Рис. 6).



Рис. 6. Микроспория гладкой кожи у пациентки 67 лет.

Микроспория у новорожденных и детей в возрасте до 1 года – явление чрезвычайно редкое. В публикации Venugopal P.V. с соавт. анализировали 240 случаев микозов волосистой части головы, и в данной группе имелось только двое детей (0,8%) в возрасте до 1 года [55]. Причины, способствующие возникновению микроспории у детей до 1 года, условно можно разделить на две группы: общесоматического порядка (низкий вес, недоношенность, использование антибиотиков широкого спектра действия по поводу другой патологии) и гигиенические (наличие заболевания у родителей или медперсонала, осуществляющего уход за ребенком, нарушение правил содержания домашних животных и т.п.). Характерной клинической особенностью микроспории в данной группе является значительная гиперемическая реакция и преобладание экссудативного компонента, что обусловлено особенностями строения кожи у детей этого возраста. В литературе имеются описания атипичных форм микроспории у детей до 1 года – развитие кериона Цельса [56]. При проведении дифференциального диагноза в этой возрастной группе необходимо учитывать часто встречающийся поверхностный кандидоз кожи. Лечение микроспорийной инфекции у детей младше 1 года представляет значительные сложности в связи с отсутствием рекомендаций-стандартов. Большинство топических и системных антифунгальных средств могут быть использованы у детей более старшей возрастной группы (в основном старше двух лет). За рубежом существует опыт применения гризеофульвина [57, 58], флуконазола [59] и тербинафина [56] у детей в возрасте до 1 года.

Терапия беременных представляет наиболее сложную проблему. Если в отношении лечения детей до 1 года и пожилых людей имеется достаточное количество доказательств безопасности и эффективности антифунгальных препаратов, то для группы беременных таких данных нет. Системные противогрибковые средства в группе беременных/кормящих женщин не применяют. Среди топических антифунгальных препаратов для использования у данной категории также есть ограничения: возможно применение

ние только отдельных азоловых местных средств [60].

Несмотря на изучение микроспории на протяжении почти двух столетий, и в XXI веке существуют нерешенные задачи: например, разработка дешевого и доступного экспресс-метода видовой идентификации возбудителя данного микоза; снижение заболева-

емости и внедрение эффективных профилактических мероприятий (в особенности – в отношении антропонозной микроспории); создание безопасных и эффективных схем терапии у «особых» групп пациентов (лица пожилого возраста, дети до 1 года, беременные женщины).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. De Hoog G.S., Dukik K., Monod M., et al. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia*. 2017; 182 (1-2): 5-31. doi.org/10.1007/s11046-016-0073-9
2. Gräser Y., Monod M., Bouchara J.P., et al. New insights in dermatophyte research. *Med Mycol*. 2018; 56 (suppl.1): 2-9. doi:10.1093/mmy/myx141
3. Rezaei-Matehkolaei A., Makimura K., de Hoog G.S., et al. Multilocus differentiation of the related dermatophytes *Microsporum canis*, *Microsporum ferrugineum* and *Microsporum audouinii*. *J. Med. Microbiol*. 2012; 61 (Pt 1): 57-63. doi:10.1099/jmm.0.036541-0
4. John A.M., Schwartz R.A., Janniger C.K. The kerion: an angry tinea capitis. *Int. J. Dermatol*. 2018; 57 (1): 3-9. doi.org/10.1111/ijd.13423
5. Faure-Cognet O., Fricker-Hidalgo H., Pelloux H., Leccia M.T. Superficial fungal infections in a French teaching hospital in Grenoble Area: retrospective study on 5470 samples from 2001 to 2011. *Mycopathologia*. 2016; 181 (1-2): 59-66. doi.org/10.1007/s11046-015-9953-7
6. Ресурсы и деятельность медицинских организаций дерматовенерологического профиля. Заболеваемость инфекциями, передаваемыми половым путем, заразными кожными болезнями и болезнями кожи. Министерство здравоохранения Российской Федерации Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Министерства здравоохранения Российской Федерации ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Статистические материалы). Москва, 2019. [Resources and activities of medical organizations of dermatovenereological profile. Incidence of sexually transmitted infections, infectious skin diseases and skin diseases. The Ministry of health of the Russian Federation, the Department of monitoring, analysis and strategic development of health FGBI "Central Scientific-research Institute of Organization and Informatization of Health" Ministry of health of the Russian Federation FGBU "State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology" the Ministry of health of the Russian Federation (Statistical content). Moscow, 2019 (In Russ)].
7. Ginter-Hanselmayer G., Weger, W., Ilkit M., Smolle J. Epidemiology of tinea capitis in Europe: Current state and changing patterns. *Mycoses* 2007; 50: 6–13. doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01424.x
8. Ерзина Е.И., Позднякова О.Н. Микроспория: клинические особенности у детей и подростков. Сибирский научный медицинский журнал. 2012; №2: 8. [Erzina E.I., Pozdnyakova O.N. Microsporia: clinical features in children and adolescents. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2012; №2: 8 (In Russ)].
9. Aneke C.I., Otranto D., Cafarchia C. Therapy and antifungal susceptibility profile of *Microsporum canis*. *J. Fungi* (Basel). 2018; 4 (3): 107. doi:10.3390/jof4030107
10. Халдеева Е.В., Лисовская С.А., Глушко Н.И. Микобиота кожных покровов и шерсти домашних животных как потенциальный источник возбудителей дерматомикозов. Проблемы медицинской микологии. 2019; 22 (4): 54-58. [Khaldeeva E.V., Lisovskaya S.A., Glushko N.I. Mycobiota of skin and hair of pets as a potential source of dermatomycosis pathogens. *Problems in medical mycology*. 2019; 22 (4): 54-58 (In Russ)].
11. Рукавишников В.М., Гребенюк В.Н. Атипичная форма микроспории. Вестник дерматологии и венерологии 1997; 4: 65-68. [Rukavishnikova V.M., Grebenjuk V.N. Atypical form of microsporia. *Bulletin of dermatology and venereology* 1997; 4: 65-68. (In Russ)].
12. De Hoog G.S., Guarro J., Gené J., et al. Atlas of Clinical Fungi, 3rd e-edition. 2019.
13. Котрехова Л.П. Случай успешной терапии микроспории у больного, заразившегося от слона, сертоконазолом. Клиническая дерматология и венерология. 2019; 18; 2: 154-159. [Kotrehova L.P. A case of successful treatment of microsporia in a patient who got infected by the elephant, sertaconazole. *Clinical dermatology and venereology*. 2019; 18; 2:154-159 (In Russ)].
14. Odongo M.O., Langat D.P., Mande J.D., et al. Prevalence of ringworm (dermatohyrtosis) in dogs & cats submitted to the Small Animal Clinic of the University of Nairobi between 2001& 2010." *Kenya Veterinarian*. 2012; 36 (1): 26-35.
15. Rippon J.W. The changing epidemiology and emerging patterns of dermatophyte species. *Curr. Top. Med. Mycol*. 1985; 1: 208-234. doi.org/10.1007/978-1-4613-9547-8\_8
16. Skerlev M., Miklic' P. The changing face of *Microsporum* spp. infections. *Clin. Dermatol*. 2010; 28: 146-50.

doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283293d9b

17. Fuller L.C. Changing face of tinea capitis in Europe. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2009; 22: 115-8. doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283293d9b
18. Zhan P., Li D., Wang C., et al. Epidemiological changes in tinea capitis over the sixty years of economic growth in China. *Med. Mycol.* 2015; 53 (7): 691-698. doi:10.1093/mmy/myv057
19. Карабаева И.Т. Актуальные проблемы эпидемиологии и клиники микроспории. Успехи медицинской микологии. 2015; 14: 22-26. [Karabaeva I.T. Actual problems of epidemiology and microsporia clinic. *Advances in Medical Mycology.* 2015; 14: 22-26 (In Russ)].
20. Касаткин Е.В., Лысогорская И.В., Козырева Т.Н. Этиологическая структура дерматофитий в Красногвардейском районе Санкт-Петербурга в 2016-2018 годах. Успехи медицинской микологии. 2019; 20: 76-77. [Kasatkin E.V., Lysogorskaja I.V., Kozyreva T.N. The etiological structure of dermatophytosis in the Krasnogvardeisky district of St. Petersburg in 2016-2018. 2019;20:76-77 (In Russ)].
21. Hay R.J., Robles W., Midgley G., Moore M.K. European Confederation of Medical Mycology Working Party on Tinea Capitis. Tinea capitis in Europe: new perspective on an old problem. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2001; 15: 229-233. doi.org/10.1046/j.1468-3083.2001.00214.x
22. Descamps F., Brouta F., Monod M., et al. Isolation of a *Microsporium canis* gene family encoding three subtilisin-like proteases expressed in vivo. *J. Invest. Dermatol.* 2002; 119 (4): 830-835. doi:10.1046/j.1523-1747.2002.01784.x
23. Mao L., Zhang L., Li H., et al. Pathogenic fungus *Microsporium canis* activates the NLRP3 inflammasome. *Infect Immun.* 2014; 82 (2):882-892. doi:10.1128/IAI.01097-13
24. Chah K.F., Majiagbe K.A., Kazeem H.M., et al. Dermatophytes from skin lesions of domestic animals in Nsukka, Enugu State, Nigeria. *Vet. Dermatol.* 2012; 23 (6): 522-e104. doi:10.1111/j.1365-3164.2012.01089.x
25. Manuel Thomas, Ramya Kumaran, et al. Rattus norvegicus Berkenhout and zoonoses:a preliminary study from Vembanadu Wetlands. *Journal of Pure and Applied Microbiology.* 2012, 6 (1): 417-421.
26. Espinel-Ingroff A. History of medical mycology in the United States. *Clin. Microbiol. Rev.* 1996; 9 (2): 235-272. doi.org/10.1128/CMR.9.2.235
27. Zhan P., Liu W. The Changing face of dermatophytic infections worldwide. *Mycopathologia.* 2017; 182 (1-2): 77-86. doi.org/10.1007/s11046-016-0082-8
28. Nenoff P., Krüger C., Ginter-Hanselmayer G., Tietz H.J. J. Mycology - an update. Part 1: Dermatophytes: causative agents, epidemiology and pathogenesis. *Dtsch. Dermatol. Ges.* 2014; 12 (3): 188-209. doi.org/10.1111/ddg.12245
29. Philpot C.M. Geographical distribution of the dermatophytes: a review. *J. Hyg. (Lond).* 1978; 80 (2): 301-313. doi.org/10.1017/S0022172400053663
30. Ayanbimpe G.M., Taghir H., Diya A., Wapwera S. Tinea capitis among primary school children in some parts of central Nigeria. *Mycoses.* 2008; 51: 336-40. doi.org/10.1111/j.1439-0507.2007.01476.x
31. Woldeamanuel Y., Leekassa R., Chryssanthou E., et al. Prevalence of tinea capitis in Ethiopian schoolchildren. *Mycoses.* 2005; 48 (2): 137-141. doi.org/10.1111/j.1439-0507.2004.01081.x
32. Brito-Santos F., Figueiredo-Carvalho M.H.G., Coelho R.A., et al. Tinea capitis by *Microsporium audouinii*: case reports and review of published global literature 2000-2016. *Mycopathologia.* 2017; 182 (11-12): 1053-1060. doi:10.1007/s11046-017-0181-1
33. Wiegand C., Mugisha P., Mulyowa G.K., et al. Identification of the causative dermatophyte of tinea capitis in children attending Mbarara Regional Referral Hospital in Uganda by PCR-ELISA and comparison with conventional mycological diagnostic methods. *Med. Mycol.* 2016; 55: 660-668. doi.org/10.1093/mmy/myw112
34. Sacheli R., Adjetey C., Darfouf R., et al. A one-year survey of *Microsporium audouinii* infections in Belgium: epidemiological and genotypic characterization. *Clin. Microbiol. Infect.* 2016; 22 (3): 285-9. doi.org/10.1016/j.cmi.2015.11.012
35. Kieliger S., Glatz M., Cozzio A., Bosshard P.P. Tinea capitis and tinea faciei in the Zurich area-an 8-year survey of trends in the epidemiology and treatment patterns. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2015; 29: 1524-1529. doi: 10.1111/jdv.12908.
36. Donghi D., Hauser V., Bosshard P.P. *Microsporium audouinii* tinea capitis in a Swiss school: assessment and management of patients and asymptomatic carriers. *Med. Mycol.* 2011; 49: 324-8. doi.org/10.3109/13693786.2010.522602
37. Zink A., Papanagiotou V., Todorova A., et al. Outbreak of *Microsporium audouinii* in Munich - the return of infectious fungi in Germany. *Mycoses.* 2014; 57 (12): 765-770. doi:10.1111/myc.12242
38. Raina D., Gupta P., Khanduri A. A First case of *Microsporium ferrugineum* causing tinea corporis in Uttarakhand. *Ann. Trop. Med. Public Health.* 2016; 9; 5: 351-353. doi.org/10.4103/1755-6783.190195
39. Weitzman I., Summerbell R.C. The dermatophytes. *Clin. Micro Rev.* 1995; 8: 240-259. doi.org/10.1128/CMR.8.2.240
40. Ishizaki S., Ito H., Hanyaku H., Harada T. Nihon. Two cases of tinea capitis by *Microsporium ferrugineum* believed infected in Myanmar. *Ishinkin Gakkai Zasshi* 2003; 44 (3): 203-207. doi:10.3314/jjmm.44.203

41. *Wisuthsarewong W., Chairprasert A., Viravan S.* Outbreak of *Tinea capitis* caused by *Microsporum ferrugineum* in Thailand. *Mycopathologia*. 1996; 135 (3): 157-161. doi:10.1007/BF00632337
42. *Hayette M.P., Seidel L., Adjetey C., et al.* Clinical evaluation of the DermaGenius® Nail real-time PCR assay for the detection of dermatophytes and *Candida albicans* in nails. *Medical Mycology*. 2019; 57 (3): 277-283. doi.org/10.1093/mmy/myy020
43. *Ross I.L., Weldhagen G.F., Kidd S.E.* Detection and identification of dermatophyte fungi in clinical samples using a commercial multiplex tandem PCR assay. *Pathology*. 2020. doi: 10.1016/j.pathol.2020.03.002
44. *Bergmans A.M., van der Ent M., Klaassen A., et al.* Evaluation of a single-tube real-time PCR for detection and identification of 11 dermatophyte species in clinical material. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16 (6): 704-10. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.02991.x
45. *Brillowska-Dabrowska A., Michalek E., Saunte D.M.L., et al.* PCR test for *Microsporum canis* identification. *Medical Mycology*. 2013; 51 (6): 576-579. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.755741>
46. *Uhrlaß S., Wittig F., Koch D., et al.* Halten die neuen molekularen Teste – Microarray und Realtime-Polymerasekettenreaktion – zum Dermatophytennachweis das, was sie versprechen? [Do the new molecular assays-microarray and realtime polymerase chain reaction-for dermatophyte detection keep what they promise?]. *Hautarzt*. 2019; 70 (8): 618-626. doi:10.1007/s00105-019-4447-z
47. *Рук А., Давбер Р.* Болезни волос, волосистой части головы. Пер. с англ. М., 1985, 528. [Ruk A., Dauber R. Diseases of the hair, scalp. М., 1985; 528 p. (In Russ)].
48. *Медведева Т.В., Лейна Л.М., Чулина Г.А. и др.* Микроспория: распространенные и редкие возбудители. Редкие клинические случаи. *Клиническая дерматология и венерология*. 2012; 4: 85-91. [Medvedeva T.V., Leina L.M., Chilina G.A., Bogomolova T.S., et al. Microsporia: common and rare pathogens. Rare clinical cases. *Clinical Dermatology and Venerology*. 2012; 4: 85-91 (In Russ)].
49. *Антонова С.Б., Уфимцева М.А., Бочкарев Ю.М.* Атипичная микроспория: «трансформированный вариант». Случай из практики. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 5. [Antonova S.B., Ufimceva M.A., Bochkaev Ju.M. Atypical microsporia: “transformed option”. Case of practice. *Modern problems of science and education*. 2015; 5 (In Russ)].
50. *Чеботарев В.В.* Исторические и современные аспекты лечения микозов волосистой части головы. *Клин. дерматол. и венерол.* 2006; 3: 69-73. [Chebotarev V.V. Historical and modern aspects of the treatment of mycosis of the scalp. *Clinical Dermatology and Venerology*. 2006; 3: 69-73 (In Russ)].
51. *Потекаев Н.Н.* Тербинафин (ламизил) в терапии микроспории волосистой части головы. *Актуальные вопросы дерматовенерологии*. Тверь, 2001: 110-111. [Potekaev N.N. Terbinafine (lamisil) in the treatment of scalp microsporia. *The actual questions of dermatology and venereology*. Tver, 2001: 110-111. [(In Russ)].
52. *Chen X., Jiang X., Yang M., et al.* Systemic antifungal therapy for tinea capitis in children. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; 5: CD004685. doi:10.1002/14651858.CD004685.pub3
53. *Vastarella M., Gallo L., Cantelli M., et al.* An undetected case of tinea capitis in an elderly woman affected by dermatomyositis: how trichoscopy can guide to the right diagnosis. *Skin Appendage Disord.* 2019. doi.org/10.1159/000495805
54. *Tilstra J.S., Prevost N., et al.* Scalp dermatomyositis revisited. *Arch. Dermatol.* 2009; 145 (9): 1062-3. doi.org/10.1001/archdermatol.2009.194
55. *Venugopal P.V., Venugopal T.V.* Tinea capitis in Saudi Arabia. *Int. J. Dermatol.* 1993; 32 (1): 39-40. doi:10.1111/j.1365-4362.1993.tb00961.x
56. *Aste N., Pinna A.L., Pau M., Biggio P.* Kerion Celsi in a newborn due to *Microsporum canis*. *Mycoses*. 2004; 47 (5-6): 236-237. doi:10.1111/j.1439-0507.2004.00967.x
57. *Gilaberte Y., Rezusta A., Coscojuela C.* Tinea capitis in a newborn infected by *Microsporum audouinii* in Spain. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2003; 17 (2): 239-240. doi:10.1046/j.1468-3083.2003.00577\_10.x
58. *Weston W.L., Morelli J.G.* Neonatal tinea capitis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1998; 17 (3): 257-258. doi:10.1097/00006454-199803000-00021
59. *Metkar A., Joshi A., Vishalakshi V., et al.* Extensive neonatal dermatophytoses. *Pediatr Dermatol.* 2010; 27 (2): 189-191. doi:10.1111/j.1525-1470.2009.00941.x
60. *Kaul S., Yadav S., Dogra S.* Treatment of dermatophytosis in elderly, children, and pregnant women. *Indian Dermatol. Online J.* 2017; 8 (5): 310-318. doi.org/10.4103/idoj.IDOJ\_169\_17

Поступила в редакцию журнала 18.08.2020

Рецензент: Т.С. Богомолова

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МУКОРМИКОЗА У ВЗРОСЛЫХ

<sup>1</sup>Хостелиди С.Н. (доцент), <sup>1</sup>Шадринова О.В. (доцент)\*, <sup>1</sup>Борзова Ю.В. (зав. микологической клиникой), <sup>1</sup>Десятик Е.А. (врач-миколог)<sup>1</sup>, Николаева Н.Г. (врач-рентгенолог), <sup>1</sup>Богомолова Т.С. (зав. лаб.), <sup>1</sup>Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), <sup>2</sup>Волкова А.Г. (зав. отд.), <sup>2</sup>Попова М.О. (доцент), <sup>2</sup>Зубаровская Л.С. (зам. директора), <sup>2</sup>Колбин А.С. (зав. кафедрой), <sup>3</sup>Медведева Н.В. (зам. главного врача), <sup>3</sup>Подольцева Э.И. (зав. отд.), <sup>3</sup>Климович А.В. (зав. отд.), <sup>4</sup>Лебедева М.С. (врач-клинический фармаколог), <sup>5</sup>Семелев В.Н. (зав. отд.), <sup>6</sup>Зюзгин И.С. (зав. отд., врач-гематолог), <sup>6</sup>Чудиновских Ю.А. (врач-онколог), <sup>7</sup>Успенская О.С. (зав. отд.), <sup>7</sup>Сатурнов А.В. (зав. отд.), <sup>1</sup>Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; <sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова; <sup>3</sup>Городская больница № 31; <sup>4</sup>Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический); <sup>5</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова; <sup>6</sup>НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова; <sup>7</sup>Ленинградская областная клиническая больница, Санкт-Петербург, Россия

С 2002 по 2020 гг. в регистр проспективно включили 83 взрослых больных «доказанным» и «вероятным» мукормикозом (EORTC/MSGERC, 2019). Наиболее частыми фоновыми заболеваниями мукормикоза были онкогематологические заболевания (67%). Возбудители мукормикоза: *Rhizopus spp.* (28%), *Lichtheimia corymbifera* (22%), *Mucor spp.* (18%), *Rhizomucor pusillus* (12%), *Rhizomucor spp.* (8%), *Rhizopus microsporus* (6%), *Rhizopus arrhizus* (2%), *Rhizomucor variabilis* (2%), *Rhizopus stoloniter* (2%). Поражение легких выявили у 65% пациентов. Антимикотическую терапию применяли у 76% больных, хирургическое лечение – у 52%. Общая выживаемость пациентов в течение 12 недель составила 63%.

**Ключевые слова:** *Lichtheimia corymbifera*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, мукормикоз, взрослые, острый лейкоз

## CLINICAL AND LABORATORY FEATURES OF MUCORMYCOSIS IN ADULTS

<sup>1</sup>Khostelidi S.N. (associate professor), <sup>1</sup>Shadrivova O.V. (associate professor), <sup>1</sup>Borzova U.V. (head of the mycological clinic), <sup>1</sup>Desyatik E.A. (physician-mycologist), <sup>1</sup>Nicolaeva N.G. (radiologist), <sup>1</sup>Bogomolova T.S. (head of the laboratory), <sup>1</sup>Avdeenko U.L. (senior scientific collaborator), <sup>2</sup>Volkova A.G. (head of the clinical department), <sup>2</sup>Popova M.O. (associate professor), <sup>2</sup>Zubarovskaya L.S. (deputy director), <sup>2</sup>Kolbin A.S. (head of the department), <sup>3</sup>Medvedeva N.V. (deputy chief physician), <sup>3</sup>Podoltseva E.I. (head of the clinical department), <sup>3</sup>Klimovich A.V. (head of the clinical department), <sup>4</sup>Lebedeva M.S. (clinical pharmacologist), <sup>5</sup>Semelev V.N. (head of the clinical department), <sup>6</sup>Zuzgin I.S. (head of the clinical department, hematologist), <sup>6</sup>Chudinovskih U.A. (oncologist), <sup>7</sup>Uspenskaya O.S. (head of the clinical department), <sup>7</sup>Saturnov A.V. (head of the clinical department), <sup>1</sup>Klimko N.N. (head of the department)

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; <sup>2</sup>First St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlov; <sup>3</sup>City Hospital №31; <sup>4</sup>St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center for Specialized Types of Medical Care (oncological); <sup>5</sup>Military Medical Academy named after S.M. Kirov; <sup>6</sup>Institute of Oncology named after N.N. Petrova; <sup>7</sup>Leningrad Regional Clinical Hospital, St. Petersburg, Russia

In 2002-2020 years in prospective study were included 83 adult patients with «proven» and «probable» mucormycosis (EORTC/MSGERC, 2019). The most frequent underlying conditions were hematological diseases (67%). The etiology agents were: *Rhizopus spp.* (28%), *Lichtheimia corymbifera* (22%), *Mucor spp.* (18%), *Rhizomucor pusillus* (12%), *Rhizomucor spp.* (8%), *Rhizopus microsporus* (6%), *Rhizopus arrhizus* (2%), *Rhizopus oryzae* (2%), *Rhizopus stoloniter* (2%). Pulmonary mucormycosis was main clinical form in 65% of patients. Antifungal therapy was used in 76% patients, surgery – 52%. 12 weeks overall survival was 63%.

**Key words:** mucormycosis, *Lichtheimia corymbifera*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, acute leukemia, adult

### ВВЕДЕНИЕ

Инвазивный мукормикоз в настоящее время является одним из наиболее тяжелых инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных больных. Это связано с новыми схемами цитостатической терапии и широким использованием трансплантации гемопоэтических стволовых клеток как «терапии спасения» [1]. В зависимости от клинического варианта летальность иммунокомпрометиро-

\* Контактное лицо: Хостелиди Софья Николаевна, e-mail: sofianic@mail.ru

ванных больных мукомикозом в течение 90 дней составляет 20-80% [2-4].

В настоящее время особенности течения мукомикоза у взрослых представлены на основании изучения относительно небольших когорт пациентов.

Цель данного исследования – изучение фоновых заболеваний, факторов риска, этиологии, клинических и диагностических особенностей, а также способов и результатов лечения мукомикоза у взрослых.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование является проспективным, динамическим и обсервационным. На базе кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова был создан регистр больных мукомикозом. С 2002 по 2020 гг. в регистр проспективно включили 83 больных «доказанным» и «вероятным» мукомикозом (EORTC/MSGERC, 2019) в возрасте от 18 до 74 лет (медиана – 43 года). Кроме демографических данных, учитывали более 200 показателей, включающих данные об анамнезе заболевания и жизни пациентов, наличие факторов риска развития инвазивных микозов, результаты обследования и лечения.

Клинические исследования включали сбор субъективных и объективных данных (сбор жалоб, объективный осмотр).

Для диагностики мукомикоза проводили компьютерную томографию легких и придаточных пазух носа в режиме высокого разрешения, магнитную резонансную томографию, фибробронхоскопию, плевральные и люмбальные пункции, пункции придаточных пазух носа, а также биопсию тканей и патоморфологические исследования.

Лабораторная диагностика включала микроскопию, посев и гистологические исследования. Для уточнения диагноза с 2013 г. использовали молекулярно-генетическую идентификацию мукомикозов из культур, а также молекулярно-генетическую идентификацию мукомикозов в гистологических препаратах.

Диагностировали мукомикоз и оценивали эффективность антифунгальной терапии на основании критериев, предложенных Европейской организацией по изучению и лечению рака (European Organisation for Research and Treatment of Cancer – EORTC), и группы, исследующей микозы (Mycoses Study Group Education and Research Consortium), пересмотренные в 2019 г. [5]. Внутрибольничный мукомикоз диагностировали на основании критериев Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ, 1979 г.), а также дополнений, предложенных в 1993 г. Внутрибольничным мукомикоз считали, если инфекция развилась через 48 часов и более после поступления в лечебное учреждение, а также, если пациент повторно поступал в стационар с установ-

ленной инфекцией, явившейся следствием предыдущей госпитализации [6]. Статистический анализ данных выполняли с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 12 (StatSoft, Inc., США).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В период с 2002 по 2020 гг. в регистр включили 83 взрослых больных «доказанным» и «вероятным» мукомикозом (EORTC/MSGERC, 2019), что составило 74% от общего числа лиц с мукомикозом. Медиана возраста пациентов – 43 года (18-74), мужчин – 58 %.

Анализ фоновых заболеваний показал, что наиболее часто мукомикоз развивался у онкогематологических больных (n=56, 67%), реже – на фоне хронического синусита и после стоматологических процедур – 8%, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) – 7%, сахарного диабета – 6%, политравмы и ожогов – 6%. В единичных случаях фоновыми заболеваниями были: СПИД – 1%, буллезный пемфигиоид – 1%, аутоиммунный гепатит – 1%, состояние после трансплантации почки – 1%.

У гематологических пациентов основными фоновыми заболеваниями были: острый миелоидный и острый лимфобластный лейкоз, реже – неходжкинская лимфома, лимфогранулематоз, хронический лимфо- и миелолейкозы, волосато-клеточный лейкоз, апластическая анемия, нейробластома, миелофиброз и миеломная болезнь (табл. 1).

Таблица 1  
Фоновые заболевания больных мукомикозом

Нозология (МКБ-10)	n=83		n=56		n=27	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Острый миелобластный лейкоз	25	30%	25	45%		
Острый лимфобластный лейкоз	9	11%	9	16%		
Неходжкинская лимфома	7	8%	7	14%		
Лимфогранулематоз	5	6%	5	9%		
Хронический лимфолейкоз	3	4%	3	5%		
Хронический миелолейкоз	2	2%	2	3%		
Волосатоклеточный лейкоз	1	1%	1	2%		
Апластическая анемия	1	1%	1	2%		
Нейробластома	1	1%	1	2%		
Миелофиброз	1	1%	1	2%		
Миеломная болезнь	1	1%	1	2%		
Хронический синусит и стоматологические процедуры	7	8%			7	26%
ХОБЛ	6	7%			6	22%
Сахарный диабет	5	6%			5	18%
Политравма и ожоги	5	6%			5	18%
буллезный пемфигиоид	1	1%			1	4%
СПИД	1	1%			1	4%
Аутоиммунный гепатит	1	1%			1	4%
Состояние после трансплантации почки	1	1%			1	4%

Мукормикоз развивался как внутрибольничная инфекция у 62% больных, медиана срока после госпитализации – 37±10 дней. Среди онкогематологических пациентов этот показатель был выше – в условиях стационара мукормикоз возник у 87%, медиана – 40 ±5 дней.

При изучении факторов риска выявили, что у онкогематологических больных мукормикоз развивался сразу после или во время проведения цитостатической полихимиотерапии (ПХТ). Также факторами риска были: длительный агранулоцитоз и лимфоцитопения (медиана дней – 30), длительное применение глюкокортикостероидов (ГКС), алло-ТКСК, хирургические вмешательства и диабетический кетоацидоз. Анализ факторов риска у онкогематологических больных и пациентов без онкогематологических заболеваний представлен в таблицах 2а и 2б.

**Таблица 2а**

**Факторы риска развития мукормикоза у онкогематологических больных**

Факторы риска и фоновые состояния	n=56	
	Абс.	%
Полихимиотерапия	54	96
Число курсов ПХТ	медиана – 4	
Агранулоцитоз	49	88
Длительность агранулоцитоза	медиана – 30	
Лимфоцитопения	43	77
Длительность лимфоцитопении	медиана – 30	
Применение ГКС	42	75
Длительность приема ГКС	медиана – 29	
Алло-ТКСК	23	41

**Таблица 2б**

**Факторы риска развития мукормикоза у пациентов без онкогематологической патологии**

Факторы риска и фоновые состояния	n=27	
	Абс.	%
Хирургические вмешательства (гайморитомия, лечение ожогов, травм)	14	52
Применение ГКС (медиана – 35 дней)	7	26
Диабетический кетоацидоз	5	18
Лимфоцитопения (СПИД)	1	4

Исследование показало, что первичный очаг поражения наиболее часто локализовался в легких (65%) и придаточных пазухах носа (22%). Реже диагностировали мукормикоз центральной нервной системы (ЦНС), желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), кожи и мягких тканей, почки (табл. 3).

Поражение ≥2 органов выявили у 26% больных (30% vs 18%, p=0,000001).

**Таблица 3**

**Клинические варианты мукормикоза у взрослых**

Клинические варианты мукормикоза	n=83		n=56 онкогематологические больные		n=27 пациенты без онкогематологии	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Поражение легких	54	65%	43	77%	11	41% p=0,8
Поражение ППН	18	22%	8	14%	10	37% p=0,00009
Поражение ЦНС	4	5%	3	5%	1	4%
Поражение ЖКТ	4	5%	3	5%	1	4%
Поражение кожи и мягких тканей	7	8%	1	2%	6	22% p=0,000001
Поражение почки	1	1%	0	0	1	4%
Поражение ≥2 органов	22	26%	17	30%	5	18% p=0,000001

Наиболее частыми клиническими признаками мукормикоза были: повышение температуры тела выше 38,5 °С (77%), кашель (55%), одышка (55%), локальный болевой синдром (45%) и кровохарканье (22%). При первичном поражении придаточных пазух носа, всех пациентов беспокоили локальные боли, некроз тканей и характерный черный струп (Рис.1).



Рис. 1. Некроз тканей («черный струп») при поражении придаточных пазух носа у пациентки с хроническим лимфолейкозом.

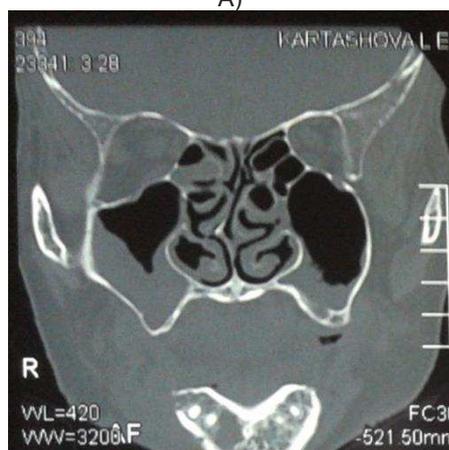
У всех лиц с первичным поражением ЖКТ основными клиническими признаками были симптомы «острого живота», интенсивность которых постепенно нарастала.

Для выявления поражения различных органов и систем больным проводили инструментальные исследования: компьютерную томографию легких (КТ) и околоносовых придаточных пазух (ОНПП), магнитно-резонансную томографию (МРТ), ультразвуковое исследование. КТ легких выполняли всем па-

циентам (Рис. 2). У лиц с поражением легких (n=55) на начальных этапах заболевания выявляли очагово-инфильтративные изменения. Одностороннее поражение было у 73% больных, двустороннее – у 27%. Гидроторакс отмечали у 48% пациентов, симптом «серпа» – у 24%. КТ придаточных пазух носа сделано 74% больных. Признаки поражения ОНПП определили у 22% пациентов. МРТ головного мозга провели у 14% больных, очаговые поражения выявили у 5%.



А)



Б)

Рис. 2. А) КТ органов грудной полости больного мукормикозом на фоне апластической анемии. Б) КТ придаточных пазух носа у больной хроническим лимфолейкозом.

С целью идентификации возбудителя заболевания осуществляли забор материала из очагов поражения для микологического исследования. Изучали следующие биосубстраты: мокроту, промывную жидкость из бронхов, плевральную жидкость, спинномозговую жидкость, промывные воды придаточных пазух носа, кровь, биоптаты. Наличие несептированного мицелия, ветвящегося под прямым углом, отмечали у 100% больных.

У 60% (n=50) пациентов получена культура микромицетов. Возбудителями мукормикоза были: *Rhizopus* spp. (28%), *Lichtheimia corymbifera* (22%), *Mucor* spp. (18%), *Rhizomucor pusillus* (12%), *Rhizomucor* spp. (8%), *Rhizopus microsporus* (6%), *Rhizopus*

*arrhizus* (2%), *Rhizopus stoloniter* (2%), *Rhizomucor variabilis* (2%). Достоверных различий в этиологии мукормикоза у онкогематологических пациентов и больных другими фоновыми патологиями выявлено не было (табл. 4). С помощью молекулярно-генетической идентификации диагноз подтвержден у 14% взрослых больных мукормикозом.

Гистологическое исследование проводили у 63% пациентов (n=52), из них у 67% исследовали биопсийный или операционный материал, данные аутопсии – 33%. Мукормикоз был гистологически подтвержден у 52% онкогематологических больных (n=29) и у 85% пациентов без онкогематологической патологии (n=23).

Таблица 4

Этиология мукормикоза у взрослых

Возбудители	n=50		онкогематологические больные (n=39)		больные без онкогематологии (n=11)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
<i>Rhizopus</i> spp.	14	28	11	28	3	27
<i>Lichtheimia corymbifera</i>	11	22	8	20	3	27
<i>Mucor</i> spp.	9	18	6	15	3	27
<i>Rhizomucor pusillus</i>	6	12	6	15	0	0
<i>Rhizomucor</i> spp.	4	8	4	10	0	0
<i>Rhizopus microsporus</i>	3	6	2	5	1	9
<i>Rhizopus arrhizus</i>	1	2	1	3	0	0
<i>Rhizopus stoloniter</i>	1	2	1	3	0	0
<i>Rhizomucor variabilis</i>	1	2	0	0	1	9

Антимикотическую терапию мукормикоза выполнили 63 больным (76%), у 24% пациентов диагноз установлен посмертно. У онкогематологических больных антимикотическую терапию проводили 82% (n=46), в когорте лиц без онкогематологической патологии – 67% (n=17). Для лечения использовали: позаконазол (800 мг/сутки) – 76% (80% vs 70%), амфотерицин В деоксихолат (1-1,5 мг/кг/сутки) – 52% (48% vs 61%, p=0,048), липидный комплекс амфотерицина В (3-5мг/кг/сутки) – 52% (63% vs 22%, p=0,000001), эхинокандины (каспофунгин, микафунгин, анидулофунгин) – 38% (52% vs 6%, p=0,00003). Медиана продолжительности антимикотической терапии составила 75±20 дней (90 vs 39, p=0,0000001) (табл. 5).

Комбинированную терапию получали 41% больных (52% vs 12%, p=0,0005). Применяли эхинокандины и АмВ, эхинокандины и липидный комплекс АмВ, липидный комплекс АмВ и позаконазол. Медиана продолжительности комбинированной антимикотической терапии составила 23 дня (±5 дней).

У 52% (n=43) пациентов использование антимикотиков сочетали с хирургическим лечением (41% vs 74%). Выполняли синусотомии, лобэктомии, резекцию ребер, резекцию кишечника, некрэктомию кожи и мягких тканей.

Таблица 5

Антимикотическая терапия мукормикоза у взрослых

Антимикотические препараты	n=63		онкогематологические больные (n=46)		больные без онкогематологии (n=17)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Позаконазол	48	76%	37	80%	12	70%
Амфотерицин В деоксихолат	33	52%	22	48%	11	64% p=0,04
Липидный комплекс амфотерицина В	33	52%	29	63%	4	24% p=0,005
Эхинокандины	24	38%	24	52%	1	6% p=0,0003
Комбинированная терапия	26	41%	24	52%	2	12% p=0,002
Медиана продолжительности общего курса антимикотической терапии	75,5±17 дней		90±18 дней		39±12 дней, p=0,0000001	

Общая выживаемость в течение 12 недель больных мукормикозом составила 63% (n=52), онкогематологических пациентов – 57% (n=32), без онкогематологической патологии – 74% (n=20) (Рис. 3).

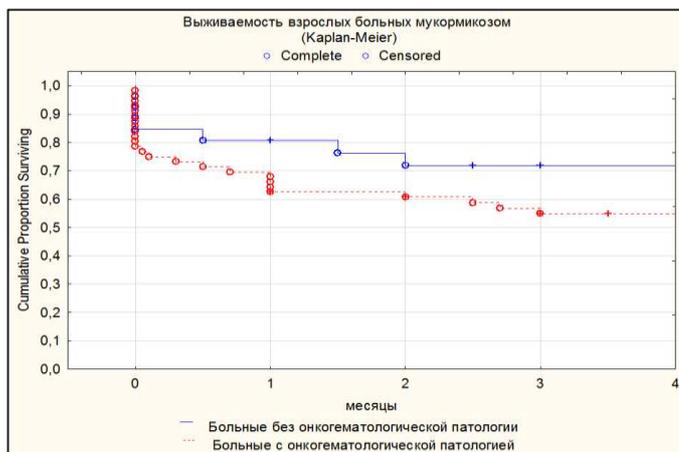


Рис. 3. Выживаемость взрослых больных мукормикозом в течение 3 месяцев.

Медиана продолжительности жизни больных мукормикозом составила 3±0,5 месяцев, у лиц с фоновой онкогематологической патологией – 3±0,2 месяца, на фоне других заболеваний – 6±1 месяцев (p=0,000006). Анализ влияния различных факторов на 90-дневную выживаемость онкогематологических пациентов с мукормикозом позволил выявить, что поражение ≥ 2 органов достоверно ухудшает прогноз (выживаемость – 28%, p=0,009). В то же время достоверно улучшает прогноз ремиссия онкогематологического заболевания, выживаемость таких больных достигает 88% (p=0,0015) (Рис.4).

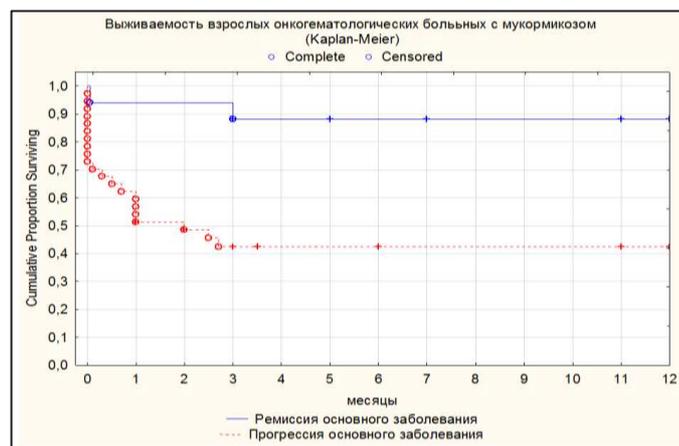


Рис. 4. Выживаемость онкогематологических взрослых больных мукормикозом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Мукормикоз – тяжелая инфекция, преимущественно развивающаяся у иммунокомпрометированных больных, причем его распространенность среди этой категории пациентов прогрессивно растет. Эти данные подтверждены проспективными международными исследованиями [7, 8]. Согласно нашим результатам, также наблюдается рост случаев мукормикоза у различных категорий больных. Основными фоновыми заболеваниями у взрослых были острые лейкозы (преимущественно острый миелобластный лейкоз – 30%). В ряде европейских работ также продемонстрировано, что мукормикоз чаще всего развивается у больных с острыми лейкозами [8-12]. George Petrikos, et al. в 2012 г. показали, что у частота мукормикоза у пациентов с острым миелобластным лейкозом и перенесших аллогенную ТКСК увеличилась с 0,9% до 2% [7].

По данным клинических и экспериментальных наблюдений, посвященных мукормикозу, установлено, что основным фактором риска, играющим решающую роль в патогенезе заболевания, являются качественные и количественные нарушения фагоцитарного звена иммунного ответа [1]. Согласно нашему исследованию, мукормикоз у взрослых развивается одинаково часто как на фоне длительного агранулоцитоза (59%, n=49), так и на фоне длительного применения глюкокортикостероидов (59%, n=49). Диабетический кетоацидоз у наблюдаемых нами больных редко являлся фактором риска развития мукормикоза (6%, n=5).

Анализ результатов проведенного нами исследования, а также данных из литературных источников свидетельствует, что наиболее частой клинической формой мукормикоза у взрослых как с онкогематологической патологией, так и без таковой является поражение легких (50-61%) [10-13]. Однако отметим, что у взрослых без фоновых онкогематологических заболеваний поражение мукоромицетами придаточных пазух носа (ППН) развивается досто-

верно чаще, чем у больных онкогематологическими заболеваниями ( $p=0,00009$ ).

Диагностика мукомикоза требует многократного исследования лабораторного материала из очагов поражения, что часто трудно выполнимо ввиду тяжести состояния пациентов. При обследовании микроскопические признаки наличия мукомикоза в биосубстратах обнаружили у всех больных. Культуральное исследование было позитивным у 61% пациентов. При этом выделяли мукомикоты в культуре одинаково часто, как у больных онкогематологическими заболеваниями, так и без таковых. Согласно зарубежным данным, выделить мукомикоты в культуре удавалось до 75% всех пациентов [13].

В результате микологического обследования нами выявлен широкий спектр возбудителей мукомикоза: *Rhizopus* spp., *Lichtheimia corymbifera*, *Rhizomucor* spp., *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus microsporus*, что сходно с аналогичными данными, опубликованными европейскими исследователями [11, 12]. При этом виды возбудителей практически не отличались у больных онкогематологической и другой фоновой патологией.

Согласно международным рекомендациям, основными антимикотиками для лечения мукомикоза являются липосомальный АмВ, изавуконазол и позаконазол [13]. В нашей когорте у онкогематологических больных чаще использовали позаконазол, липидные формы АмВ, а также эхинокандины в составе комбинированной терапии. У пациентов с другими фоновыми заболеваниями чаще применяли позаконазол, АмВ деоксихолат и практически не использовали комбинированную терапию. Несмотря на применение новых антимикотических препаратов и частое хирургическое лечение, выживаемость боль-

ных мукомикозом остается низкой – 63%. В то же время мы не можем не отметить положительной тенденции выживаемости пациентов данной категории при сравнении с показателями предыдущих лет [14]. Такую же тенденцию можно проследить и в зарубежных публикациях [12, 13].

## ВЫВОДЫ

1. Наиболее частыми фоновыми заболеваниями мукомикоза были онкогематологические (67%).

2. Поражение легких выявили у 65% пациентов, поражение  $\geq 2$  органов – у 26%. У онкогематологических больных поражение легких и диссеминацию процесса отмечали в 2 раза чаще, чем у лиц другой фоновой патологией.

3. Возбудители мукомикоза: *Rhizopus* spp. (28%), *Lichtheimia corymbifera* (22%), *Mucor* spp. (18%), *Rhizomucor* spp. (8%), *Rhizomucor pusillus* (12%), *Rhizopus microsporus* (6%), *Rhizopus arrhizus* (2%), *Rhizomucor variabilis* (2%), *Rhizopus stoloniter* (2%). Достоверных различий в этиологии мукомикоза у онкогематологических больных и пациентов с другой фоновой патологией не выявили.

4. Антимикотическую терапию применяли у 76% больных, хирургическое лечение – у 52%. Комбинированную антимикотическую терапию чаще проводили онкогематологическим больным (52% vs 12%,  $p=0,002$ ).

5. Общая выживаемость пациентов в течение 12 недель составила 63%, онкогематологических – 57%.

6. Достоверно ухудшает прогноз поражение  $\geq 2$  органов ( $p=0,009$ ), улучшает – ремиссия онкогематологического заболевания ( $p=0,0015$ ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Hassan M.I.A., Voigt K. Pathogenicity patterns of mucormycosis: epidemiology, interaction with immune cells and virulence factors. *Med. Mycol.* 2019; 57 (Suppl. 2): S245-S256. doi: 10.1093/mmy/myz011.
2. Skiada A., Lass-Floerl C., Klimko N., et al. Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. *Med. Mycol.* 2018; 56 (suppl. 1): 93-101. doi: 10.1093/mmy/myx101.
3. Hammond S.P., Baden L.R., Marty F.M., et al. Mortality in hematologic malignancy and hematopoietic stem cell transplant patients with mucormycosis, 2001 to 2009. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011; 55 (11): 5018-21. doi: 10.1128/AAC.00536-11
4. Zilberberg M.D., Shorr A.F., Huang H., et al. Hospital days, hospitalization costs, and inpatient mortality among patients with mucormycosis: a retrospective analysis of US hospital discharge data. *BMC Infectious Diseases.* 2014; 14: 310 doi: 10.1186/1471-2334-14-310.
5. Donnelly J. P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71 (6): 1367-1376. doi.org/10.1093/cid/ciz1008
6. Ellenberg E. Analyse terminologique des définitions données à l'infection nosocomiale et proposition d'une définition. *Rev. Méd. Int.* 2005; 26 (7): 572-577. doi.org/10.1016/j.revmed.2004.11.009
7. Petrikos G., Skiada A., Lortholary O., et al. Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54 (Suppl. 1): S23-34. doi: 10.1093/cid/cir866
8. Lanternier F., Dannaoui E., Morizot G., et al. A global analysis of mucormycosis in France: the retrozygo study (2005-2007). *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54 (Suppl. 1): S35-43. doi: 10.1093/cid/cir880

9. *Hu R., Jiang X. and Wu Y.* Risk factors for invasive pulmonary fungal infection in patients with hematological malignancies not receiving hematopoietic stem cell transplant. *Neoplasma.* 2012; 59 (06): 669-675. doi: 10.4149/neo\_2012\_085
10. *Cornely O.A. Arikian-Akdagli S., Dannaoui E., et al.* ESCMID and ECMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of mucormycosis 2013. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20: 5-26. doi.org/10.1111/1469-0691.12371
11. *Jeong W., Keighley C., Wolfe R., et al.* The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and metaanalysis of case reports. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 25 (1): 26-34. doi: 10.1016/j.cmi.2018.07.011.
12. *Tissot F., Agrawal S., Pagano L.P., et al.* ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica.* 2017; 102 (3): 433-444. doi: 10.3324/haematol.2016.152900.
13. *Cornely O.A., Alastruey-Izquierdo A., Arenz D., et al.* Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19 (12): e405-e421. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30312-3.
14. *Klimko N., Khostelidi S., Volkova A., et al.* Mucormycosis in haematological patients: case report and results of prospective study in Saint Petersburg, Russia. *Mycoses.* 2014; 57 (1): 91-96 doi: 10.1111/myc.12247

*Поступила в редакцию журнала 14.09.2020*

*Рецензент: А.В. Соболев*

## МИКОГЕННАЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ КАК ПРЕДИКТОР ТЯЖЕЛОГО ТЕ- ЧЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

<sup>1,2</sup>Юновидова А.А. (аспирант)\*, <sup>1</sup>Соболев А.В. (профессор кафедры), <sup>3</sup>Скрек С.В. (докторант), <sup>4</sup>Васильев Н.Ю. (врач-иммунолог), <sup>1,2</sup>Зелянина М.И. (clin. ординатор), <sup>2,4</sup>Машука Д.М. (clin. ординатор), <sup>1</sup>Аак О.В. (в.н.с.), <sup>1</sup>Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>Французская клиника кожных болезней Пьера Волькенштейна, Санкт-Петербург, Россия; <sup>3</sup>Дерматологическая служба университетского госпиталя Энри Мондор, Кретей, Франция; <sup>4</sup>Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

*Связь между грибковой сенсibilizацией и тяжелым течением бронхиальной астмы (БА) очевидна, однако на настоящий момент в научной литературе нет достоверных доказательств, является ли эта связь причинно-следственной. Выявление клинико-иммунологических характеристик у пациентов с тяжелой формой астмы с грибковой сенсibilizацией (SAFS) и изучение потенциальных прогностических биомаркеров является перспективным направлением для своевременной диагностики и эффективного лечения БА тяжелого течения.*

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, микогенная сенсibilizация, Ил-33, цитокины, атопия, SAFS

## MYCOGENIC SENSITIZATION AS A PREDICTOR OF SEVERE BRON- CHIAL ASTHMA

Yunovidova A.A. (postgraduate student)<sup>1,2</sup>, Sobolev A.V. (professor of the department)<sup>1</sup>, Skrek S.V. (doctoral candidate)<sup>3</sup>, Vasilyev N.Y. (immunologist)<sup>4</sup>, Zelianina M.I. (clinical physician)<sup>1,2</sup>, Mashuka D.M. (clinical physician)<sup>2,4</sup>, Aak O.V. (leading scientific collaborator)<sup>1</sup>, Klimko N.N. (head of the department)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia; <sup>2</sup>French Clinic of Skin Diseases named after Pierre Wolkenstein, St. Petersburg, Russia; <sup>3</sup>Immunologie et Oncogénèse des Tumeurs Lymphoïdes» Hôpital Henri Mondor, Créteil, France; <sup>4</sup>St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

*The relationship between multiple fungal sensitizations and severe asthma with poor control is obvious, but nowadays there is no reliable evidence in the scientific literature, whether*

\* Контактное лицо: Юновидова Анастасия Александровна, e-mail: anastasia.yunovidova@gmail.com

*such an association is causal. The identification of the clinical and immunological characteristics of patients with severe asthma with fungal sensitization (SAFS) and the detection of potential prognostic biomarkers is a promising direction for the early diagnosis and effective treatment of severe asthma.*

**Key words:** bronchial asthma, fungal sensitization, IL-33, cytokines, atopy, SAFS

### ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) – хроническое заболевание, характеризующееся гиперчувствительностью бронхов и их обратимой констрикцией. Основу заболевания составляет комплекс воспалительных реакций в тканях дыхательных путей с участием различных типов клеток лимфоидной ткани, включая макроциты, эозинофилы и Т-лимфоциты. Фенотипические особенности БА играют решающее значение в верификации диагноза и планировании терапии [1].

При лечении пациентов с тяжелой формой БА необходимо учитывать также и иммунологические особенности индивида. Так, например, доказано, что степень выраженности эозинофильного воспаления в тканях дыхательных путей коррелирует с уровнем периостина – биомаркера активности ИЛ-13 в сыворотке крови [2].

Некоторые пациенты с тяжелой БА также имеют грибковую сенсibilizацию, что расценивают как отдельный специфический фенотип «тяжелая форма астмы с грибковой сенсibilizацией» (SAFS). В настоящий момент в научной литературе представлены лишь ограниченные сведения о клинических особенностях данной патологии. У больных с повышенной чувствительностью к грибковым антигенам закономерно наблюдается более тяжелое течение астмы, ранний дебют заболевания и высокая частота смертности, включая статистически более высокие показатели госпитализации и необходимость интенсивной терапии, в сравнении с пациентами без сенсibilizации в анамнезе [3].

Атопический статус является характерным предиктором тяжести течения бронхиальной астмы. Достоверно доказано, что многие аллергены, в том числе и грибковые агенты, могут существенно усугубить заболевание. Согласно данным литературы, от 50 до 70% пациентов с тяжелой формой БА имеют признаки атопического демарша в анамнезе [4]. В свою очередь, более 20% больных БА имеют грибковую сенсibilizацию, подтвержденную кожными аллергопробами или высоким уровнем иммуноглобулина IgE, специфичного к возбудителям микотической инфекции.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина и ЦРБ города Тихвина проведен ретроспективный анализ данных историй болезни 57 пациентов в

возрастном диапазоне от 19 до 58 лет с тяжелой бронхиальной астмой.

Оценку тяжести БА выполняли согласно критериям GINA (Global Initiative for Asthma), степени контроля течения заболевания и эффективности терапии – с помощью субъективных стандартизированных опросников Asthma Control test (ACT), Asthma Quality of Life Questionnaire (AQLQ) и Asthma Control Questionnaire (ACQ).

Методами иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи специализированных тест-систем количественно измеряли сывороточные уровни IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-23, IL-33, интерферона- $\gamma$ , фактора некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ), перестина и тимического стромального лимфопоэтина.

При помощи метода ИФА измеряли общие сывороточные IgE и специфичные IgE для различных аллергенов, включая грибы (*Aspergillus*, *Alternaria*, *Candida*, *Cladosporium*, *Penicillium* и виды *Trichophyton*); генез БА определяли как атопический при наличии повышенного уровня IgE, специфичного для минимум 1 аллергена при концентрации выше 0,35 UA/мл.

Оценку функции внешнего дыхания у пациентов проводили на основании данных спирометрии. Учитывали показатели жизненной емкости легких (ЖЕЛ), объема форсированного выдоха (ОФВ), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), пиковой скорости выдоха (ПСВ), индекс Тиффно, газовый состав выдыхаемого воздуха. Анализировали данные лабораторных анализов – клинического и биохимического анализов крови, газовый состав крови.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Статистическую выборку составили истории болезни 57 пациентов (46% мужчин и 54% женщин) с тяжелым течением БА (средний возраст – 67 лет).

Согласно критериям GINA, 36 больных получали 4 ступень терапии БА и 13 человек – 5 ступень.

У 24 (42,2%) пациентов генез БА был определен как неатопический. Среди 33 (57,8%) больных с выявленной сенсibilизацией чувствительность к микотическим агентам отмечали у 17 (51,5%), у 2 (6%) – наблюдали реакцию только к грибковым антигенам.

Группу исследования I (SAFS) составили 17 пациентов с доказанной микогенной сенсibilизацией, группу сравнения II (non-SAFS) – 40 человек без чувствительности к грибковым антигенам.

Анамнестически в SAFS группе зафиксирован более ранний возраст дебюта БА (в среднем – 21,7 лет против 29,4 – в группе non-SAFS), в частности,

более высокая частота раннего начала БА (моложе 16 лет) у пациентов с грибковой сенсibilизацией (39% против 21%;  $P=0,02$ ). Достоверно не было выявлено никаких существенных различий в антропометрических показателях, наличия курения в анамнезе, приверженности к терапии. Данные лабораторных и инструментальных исследований, такие как количество эозинофилов, доля выдыхаемого оксида азота, общий IgE, периостин и результаты теста легочной функции существенно не отличались между пациентами с и без грибковой сенсibilизации. Несмотря на это, согласно шкалам опросников ACT, ACQ и AQLQ, оценки SAFS группы были хуже, чем в группе non-SAFE.

Среди иммунологических показателей статистически значимо отмечалось повышение IL-33 в группе пациентов с SAFS (в среднем –  $724 \pm 1,2$  pg/mL против  $325 \pm 0,7$  pg/mL). Достоверных различий сывороточного уровня других цитокинов (IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-23, IL-33, интерферона- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ ) не обнаружили.

## ВЫВОДЫ

1. Распространенность грибковой сенсibilизации у пациентов составляет 51,5%, что коррелирует с данными литературных источников.

2. Грибковая сенсibilизация является предиктором тяжелого течения БА. Пациенты с SAFS анамнестически отмечают более ранний дебют заболевания, высокую частоту обострений, слабый клинический ответ на терапию ингаляционными глюкокортикостероидами (ГКС). При этом статистически значимых различий в данных лабораторных и инструментальных исследований в группах наблюдения не установлено.

3. У пациентов с грибковой сенсibilизацией выявлены высокие уровни сывороточного IL-33, обеспечивающего протеазное аллерген-индуцированное воспаление в дыхательных путях. Этот цитокин является активатором врожденных лимфоидных клеток Th2 типа, характеризующих аллергическое воспаление, и обеспечивает их резистентность к ГКС. Грибковая инфекция может индуцировать секрецию внеклеточной аспаратпротеазы, что, в свою очередь, активирует эозинофилы и способствует выработке IL-33, что существенно ухудшает прогноз БА. Ингибирование цитокина IL-33 является перспективным терапевтическим направлением в лечении тяжелой БА, что подтверждено актуальными клиническими исследованиями.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Chung K.F., Wenzel S.E., Brozek J.L., et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. Eur. Respir. J. 2014; 43 (2): 343-73. doi: 10.1183/09031936.00202013

2. Corren J., Lemanske R.F., Hanania N.A., et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. N. Engl. J. Med. 2011; 365: 1088e1098. doi.org/10.1056/NEJMoa1106469
3. Gent J.F., Kezik J.M., Hill M.E., et al. Household mold and dust allergens: exposure, sensitization and childhood asthma morbidity. Environ Res. 2012; 118: 86e93. doi.org/10.1016/j.envres.2012.07.005
4. Larenas-Linnemann D., Baxi S., Phipatanakul W., et al. Environmental Allergens Workgroup. Clinical evaluation and management of patients with suspected fungus sensitivity. J. Allergy Clin. Immunol. Pract. 2016; 4: 405e414. doi.org/10.1016/j.jaip.2015.10.015
5. Denning D.W., Pashley C., Hartl D., et al. Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. Clin. Transl. Allergy. 2014; 4: 14. doi.org/10.1186/2045-7022-4-14

*Поступила в редакцию журнала*

*Рецензент: М.А. Шевяков*

## РИСК-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ПРОФИЛАКТИКЕ ДЕРМАТОМИКОЗОВ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ (ПО МАТЕРИАЛАМ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ Г. ЕКАТЕРИНБУРГА)

<sup>1,2</sup>Антонова С.Б. (доцент кафедры, врач-дерматовенеролог)\*, <sup>1</sup>Уфимцева М.А. (зав. кафедрой), <sup>3</sup>Голубкова А.А. (в.н.с.), <sup>1</sup>Косова А.А. (и.о. зав. кафедрой)

<sup>1</sup>Уральский государственный медицинский университет (кафедра дерматовенерологии и безопасности жизнедеятельности); <sup>2</sup>Свердловский областной кожно-венерологический диспансер, Екатеринбург; <sup>3</sup>Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Россия

*Заболеваемость дерматомикозами детей в Российской Федерации сохраняется на стабильно высоком уровне, что ведет к необходимости изучения эпидемических особенностей этих заболеваний для разработки и внедрения риск-ориентированного подхода к профилактике. В статье представлены современные особенности формирования эпидемических очагов микроспории, трихофитии у детей в крупном промышленном городе с активными миграционными потоками.*

**Ключевые слова:** дерматомикоз, заболеваемость детей, эпидемический очаг, профилактика

## RISK-ORIENTED APPROACH TO THE PREVENTION OF SKIN MYCOSES IN MODERN CONDITIONS (BASED ON THE MATERIALS OF THE PATIENTS EXAMINATION IN EKATERINBURG CITY)

Antonova S.B. (associate professor of the department, dermatovenerologist)<sup>1,2</sup>, Ufimtseva M.A. (head of the department)<sup>1</sup>, Golubkova A.A. (leading scientific collaborator)<sup>3</sup>, Kosova A.A. (acting head of the department)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ural State Medical University (department of dermatovenerology and life safety), Ekaterinburg; <sup>2</sup>Sverdlovsk Regional Dermatovenerologic Dispensary, Yekaterinburg; <sup>3</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

*The incidence of dermatomycoses in children in Russian Federation remains at a consistently high level, which leads to the need of studying the epidemic characteristics of these dis-*

*eases in order to develop and implement a risk-based prevention approach. The article presents modern formation features of epidemic foci of microsporia, trichophytia in children on the base of a large industrial city with active migration flows.*

**Key words:** dermatomycosis, morbidity in children, epidemic focus, prevention

### ВВЕДЕНИЕ

Заболеваемость дерматомикозами детей в Российской Федерации сохраняется на высоком уровне. Так, в 2017 г. интенсивный показатель по заболеваемости микроспорией на 100 тыс. детского населения составил 231,1; трихофитией – 5,1. Исследователи отмечают, что данная эпидемическая ситуация в России обусловлена динамично развивающимся туризмом, увеличением активности миграционных потоков, высокой иммиграцией населения в Россию в крупные промышленные центры из стран ближнего зарубежья с высокой заболеваемостью микроспорией и трихофитией, в том числе из Киргизии, Узбекистана, Таджикистана, Азербайджана, Казахстана [1-4].

Современной особенностью эпидемической ситуации по заболеваемости дерматомикозами детей также является возможность инфицирования в секциях контактных видов спорта (греко-римская борьба, самбо, карате) – *tinea gladiatorum* [3, 4]. За рубежом проведены эпидемиологические исследования по распространенности *tinea gladiatorum* [5-7], также описаны эпидемические очаги (ЭО) микозов среди борцов в странах, где спортивная борьба популярна и широко распространена (Турция, Иран, США) [8-10]. Это обуславливает актуальность изучения эпидемической ситуации по заболеваемости дерматомикозами с учетом анализа формирования эпидемических очагов в современных условиях в промышленных регионах России.

Цель исследования – определение современных особенностей формирования эпидемических очагов микроспории, трихофитии в крупном промышленном центре с активными миграционными потоками.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили пациентов, находившихся на диспансерном наблюдении в детском городском микологическом центре МАУ ДГКБ № 9 и ГБУЗ СО СОКВД г. Екатеринбурга в период с 2016 г. по 2017 г. Проведено клинко-эпидемиологическое обследование 298 больных дерматомикозами (262 ребенка и 36 взрослых). Пациенты анализируемой выборки сформировали 237 эпидемических очагов в организованных коллективах, 14 – в секциях контактных видов спорта, а также 198 семейно-квартирных очагов. Протокол исследования состоял из анкетирования, сбора эпидемиологического анамнеза, инструментального и клинко-лабораторного обследования больных для

\* Контактное лицо: Антонова Светлана Борисовна, e-mail: ant-sveta13@rambler.ru.

верификации диагнозов микроспории и трихофитии. Анализ пространственного распространения грибковых инфекций кожи включал характеристику очаговости. Проведен расчет индекса очаговости (ИО), коэффициента очаговости (КО), показателя одновременно возникшей очаговости (К), уровня очаговости (УО) [10].  $ИО = n_1 / n_2$ , где  $n_1$  – количество заболеваний,  $n_2$  – общее количество очагов.  $КО = n_1 * n_2$ , где  $n_1$  – количество очагов с вторичными заболеваниями,  $n_2$  – общее количество очагов.  $К = M_2 * 1000 / (M_1 + M_2) * n$ , (где  $К$  – показатель одновременно возникшей очаговости;  $M_1$  – число первичных заболеваний очаге;  $M_2$  – число последующих заболеваний;  $n$  – число общавшихся).  $УО = n_1 / n_2 * 100$  тыс. населения,  $n_1$  – число очагов с вторичными заболеваниями за год на территории,  $n_2$  – число жителей на территории).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В эпидемических очагах всего выявлено 298 больных дерматомикозами, из них 262 ребенка и 36 взрослых. Из группы 262 детей с дерматомикозами 237 (90,5%) пациентам диагностирована микроспория; 25 (9,5%) – трихофития. Среди взрослых пациентов преобладала микроспория, установленная у 35 человек (97,2%).

При эпидемиологическом расследовании зафиксировано 237 эпидемических очагов в организованных коллективах, 198 семейно-квартирных очагов, 14 очагов в секциях контактных видов спорта. Обнаружено 92 эпидемических очага с распространением инфекции.

Дети, больные дерматомикозами, преимущественно были организованным контингентом – 237 человек (90,1%). В очагах организованных коллективов средний возраст детей с микроспорией ( $n=216$ ) составил  $14,2 \pm 2,9$  лет, трихофитией ( $n=21$ ) – значительно выше ( $15,1 \pm 1,4$  лет).

В исследуемой группе наибольший удельный вес организованных детей, больных микроспорией, сформировали ЭО без распространения инфекции. Среди трех ЭО с распространением инфекции отмечен очаг с тремя случаями инфицирования в школе-интернате, еще по одному ЭО – в дошкольном образовательном учреждении и в средней общеобразовательной школе с двумя случаями инфицирования. Организованные дети, больные трихофитией ( $n=21$ ), сформировали ЭО без распространения инфекции (с единичным случаем заболевания), за исключением ЭО с распространением инфекции в средней общеобразовательной школе (табл. 1).

В организованных коллективах преобладали ЭО без распространения инфекции (98,6% – ЭО микроспории, 95,0% – ЭО трихофитии) в виду своевременной изоляции заболевших детей из образовательных учреждений, организации осмотра контактных лиц медицинскими работниками, своевременно

го проведения текущей и заключительной дезинфекции в очагах. Организацию текущей и заключительной дезинфекции в эпидемических очагах осуществляли в соответствии с методическими указаниями МУ 3.5.2644-10. 3.5 «Организация и проведение дезинфекционных мероприятий при дерматомикозах» от 02.06.2010 г., приказом Минздрава Свердловской области № 227-п «Об организации мероприятий по заключительной дезинфекции и обследованию контактных в очагах инфекционных заболеваний на территории Свердловской области» от 07.03.2014 г. [12, 13].

Таблица 1

Характеристика эпидемических очагов микроспории, трихофитии в организованных коллективах

Дерматомикоз	Всего очагов	В том числе								Число больных
		Без распространения инфекции		С распространением инфекции		Из них с числом случаев				
		Абс.	%	Абс.	%	2 случая		3 случая		
Микроспория	212	209	98,6	3	1,4	2	66,7	1	33,3	216
Трихофития	20	19	95,0	1	5,0	1	100,0	0	0,0	21

В результате анализа эпидемиологического анамнеза установлено, что при микроспории основными источниками инфекции были домашние и бездомные кошки (котят). Отметим, что наибольший удельный вес составили домашние котят – в 91 (38,4%) случаев, в том числе котят элитных пород (британская, тайская, мейн-кун). Однако, по данным российских исследователей конца XX - начала XXI века, основным источником инфекции при микроспории являлись кошки (70,0-80,5%), преимущественно бродячие [14, 15]. Кроме того, в нашем исследовании среди редких источников заражения были декоративные шиншиллы, кролики (1,3%). Передача от человека установлена у 25 (10,5%) детей, которую наблюдали при внутрисемейном инфицировании (4,2%), а также при занятиях контактными видами спорта (6,3%).

При антропонозной трихофитии источником заражения являлся больной человек (64,0%), инфицирование происходило при занятиях контактными видами спорта. При зооантропонозной трихофитии в 4 случаях (16,0%) произошло инфицирование от крупного рогатого скота, у двух детей (8,0%) источниками инфекции были декоративные животные (крысы, хомяки).

В очагах спортивных секций средний возраст детей, больных микроспорией, составил  $12,4 \pm 1,7$  лет, трихофитией –  $14,8 \pm 1,3$  лет. Среди пациентов с микроспорией 47 (19,4%) детей посещали спортивные секции, из них 22 (46,7%) – занимались контактными видами спорта, преимущественно мальчики ( $p < 0,05$ ), а именно, греко-римской борьбой, самбо, карате, дзюдо, рукопашным боем. Наибольший

удельный вес детей (97,9%), посещающих секции контактных видов спорта, составляли мальчики. Девочки заражались микроспорией чаще при занятиях в таких секциях, как танцы, бассейн, теннис, фигурное катание, конькобежный спорт. Среди пациентов с трихофитией посещали спортивные секции 16 (64,0%) детей, из них 15 (93,7%) мальчиков занимались контактными видами спорта (греко-римская борьба, дзюдо, самбо) (табл. 2).

Таблица 2

Структура эпидемических очагов дерматомикозов в спортивных секциях

Группы больных	Эпидемические очаги в секциях							
	контактных видов спорта		легкой атлетики		в других секциях		Всего	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Больные микроспорией, из них:	22	46,8	10	21,3	15	31,9	47	100,0
мальчики	21	44,7	6	12,8	5	10,6	32	68,1
девочки	1	2,1	4	8,5	10	21,3	15	31,9
Больные трихофитией, из них:	15	93,7	0	0	1	6,3	16	100,0
мальчики	15	93,7	0	0	1	6,3	16	100,0
девочки	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0	0

При анализе группы детей, занимающихся в секциях контактных видов спорта, выявили, что 72,0% были из семей мигрантов, прибывших из стран ближнего зарубежья (Узбекистан, Таджикистан, Киргизия).

Отметим, что в секциях контактных видов спорта формировались эпидемические очаги с распространением инфекции (77,7% – ЭО микроспорией, 60,0 – ЭО трихофитией).

В семейно-квартирных ЭО средний возраст детей, больных микроспорией (n=79), составил 12,7±2,1 лет, трихофитией – 14,5±3,1. В группе детей с микроспорией инфицировались 6 (2,6%) детей грудного возраста. Кроме того, в семьях зарегистрировано 36 взрослых, больных дерматомикозами, средний возраст которых составил 32,3±4,3 года.

Проживали в неблагоустроенных частных домах и неблагоустроенных квартирах 31 (13,1%) ребенок, больной микроспорией. В неблагополучных семьях зарегистрировано 20 (8,4%) детей с микроспорией и 3 (12,0%) ребенка – с трихофитией.

Формированию семейно-квартирных очагов микроспорией и трихофитии способствует длительное амбулаторное лечение. При анализе семейно-квартирных очагов микроспорией установлен наибольший удельный вес очагов без распространения инфекции (59,6% – ЭО микроспорией, 70,0% – ЭО трихофитией). В очагах с распространением инфекции (40,4% – ЭО микроспорией, 30,0% – ЭО три-

хофитии) не соблюдался санитарно-гигиенический режим, а также регистрировали заболевания как у детей, так у взрослых первой степени родства – матери, отцы, второй – бабушки, дедушки, а также, третьей – дяди, тети.

Индекс и коэффициент очаговости в секциях контактных видов спорта превышали аналогичные данные как в семейно-квартирных очагах (микроспорией – в 1,5 и 1,9 раз, трихофитией – 2,3 и 2,0 раз соответственно), так и показатели в организованных коллективах (микроспорией – в 2,3 и 55,5 раз, трихофитией – в 3,0 и 12,0 раз соответственно). Показатели одновременно возникшей очаговости в семейно-квартирных очагах превышали аналогичные данные в секциях контактных видов спорта в 3,2 раза при микроспорией. Однако при трихофитии данный показатель был меньше в 2,7 раз, что обусловлено разными источниками инфекции, а именно: при микроспорией в семейно-квартирных очагах – домашний котенок, при трихофитии – больной человек, занимающийся контактными видами спорта (табл.3).

Таблица 3

Характеристика показателей эпидемических очагов

Показатели очаговости	Эпидемические очаги	Результат расчета показателя	
		микроспорией	трихофитией
Индекс очаговости (ИО)	организованные коллективы	1,02	1,05
	спортивные секции	2,3	3,0
	семейно-квартирные	1,5	1,3
Коэффициент очаговости (КО) (%)	организованные коллективы	1,4	5,0
	спортивные секции	77,7	60,0
	семейно-квартирные	40,4	30,0
Показатель одновременно возникшей очаговости (К)	организованные коллективы	0,00007	0,7
	спортивные секции	23,0	37,0
	семейно-квартирные	74,6	13,8
Уровень очаговости	семейно-квартирные (на 100 тыс. нас.)	27,0	2,3

Формирование эпидемических очагов с распространением инфекции (77,7% – ЭО микроспорией, 60,0% – ЭО трихофитией) с высокими характеристиками очаговости в секциях контактных видов спорта обусловлено поздним выявлением инфицированных лиц, несвоевременным проведением лечебно-профилактических мероприятий, сложностью организации текущей и заключительной дезинфекции в очагах. Вышеперечисленное служит причиной появления новой «ядерной группы» дерматомикозов –

лица, занимающиеся в секциях контактных видов спорта, на территориях с активными миграционными потоками.

### ВЫВОДЫ

Показатели очаговости зависят от плотности населения, уровня санитарной культуры, своевременного выявления больных и носителей, объема и качества противоэпидемических мероприятий. Особенности формирования эпидемической цепочки микроспории, трихофитии у детей являются: формирование эпидемических очагов в организованных коллективах без распространения инфекции; формирование семейно-квартирных очагов с распространением инфекции с вовлечением взрослых пациентов; формирование эпидемических очагов с распространением инфекции и высокими характеристиками очаговости в секциях контактных видов спорта; преобладание среди основного источника инфекции при

микроспории домашних котят, в том числе элитных пород, при трихофитии – больного человека.

Таким образом, изучение формирования эпидемических очагов дерматомикозов позволяет сформировать риск-ориентированный подход по борьбе с заразными кожными заболеваниями: организацию санитарно-просветительской работы среди населения, эпидемиологическое обследование в очагах, повышение качества проводимой в очагах текущей и заключительной дезинфекции. Высокие характеристики очаговости в секциях контактных видов спорта подтверждают появление новой «ядерной группы», обуславливают актуальность дальнейшего изучения особенностей развития инфекционного процесса у пациентов с дерматомикозами, а также определяют направления и объемы противоэпидемической и лечебно-профилактической работы.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Хисматуллина З.Р., Шарафутдинова Н.Х., Габдуллина С.Р. Ошибки в диагностике зооантропонозных микотических инфекций. Практическая медицина. 2012; 2 (56):135-136. [Khismatullina Z.R., Sharafutdinova N.H., Gabdullina S.R. Errors in the diagnosis of zoonanthropotic mycotic infections. Practical medicine. 2012; 2 (56): 135-136 (in Russ)].
2. Хисматуллина З.Р., Харисова А.Р. Атипичные случаи микроспории (обзор). Проблемы медицинской микологии. 2018; 20 (1): 3-5. [Khismatullina Z.R., Kharisova A.R. Atypical cases of microsporia (review). Problems in Medical Mycology. 2018; 20 (1): 3-5 (In Russ)].
3. Антонова С.Б., Уфимцева М.А. Заболеваемость микроспорией: эпидемиологические аспекты, современные особенности течения. – Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2016; 2 (95):142-146. [Antonova S.B., Ufimceva M.A. The incidence of microsporia: epidemiological aspects, modern features of the course. – Pediatrics. Journal them. G. N. Speransky. 2016; 2 (95): 142-146 (In Russ)].
4. Хамаганова И.В., Новожилова О.Л., Беличков А.Н. Эпидемиология трихофитии в Москве. Клиническая дерматология и венерология. 2017; 16 (1): 4-9. [Hamaganova I.V., Novozhilova O.L., Belichkov A. N. Epidemiology of trichophytia in Moscow. Clinical dermatology and venereology. 2017;16 (1):4-9.
5. Zinder S.M., Basler R.S., Foley J., et al. National athletic trainers' association position statement: skin diseases. J Athl Train. 2010; 45 (4): 411-428. doi.org/10.4085/1062-6050-45.4.411
6. Ahmadinejad Z., Alijani N., Mansori S., Ziaee V. Common sports-related infections: a review on clinical pictures, management and time to return to sports. Asian J. Sports Med. 2014; 5 (1): 1-9. doi.org/10.5812/asjasm.34174
7. Shadzi S., Ataei B., Nokhodian Z., Daneshmand D. Dermatophytes contamination of wrestling mats in sport centers of Isfahan. Iran Adv. Biomed Res. 2014; 29 (3): 241. doi.org/10.4103/2277-9175.145747
8. Ilkit M., Ali Saracli M., Kurdak H., et al. Clonal outbreak of *Trichophyton tonsurans* tinea capitis gladiatorum among wrestlers in Adana, Turkey. Med Mycol. 2010; 48: 480-485. doi.org/10.3109/13693780903278051
9. Williams C., Wells J., Klein R., et al. Notes from the field: outbreak of skin lesions among high school wrestlers. Arizona, 2014. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 2015; 64 (20): 559-560.
10. Bassiri-Jahromi S., Khaksar A.A. Outbreak of tinea gladiatorum in wrestlers in Tehran (Iran). Indian J. Dermatol. 2008; 53 (3):132-136. doi.org/10.4103/0019-5154.43219
11. Потехина Н.Н. Основы ретроспективного анализа инфекционной заболеваемости: учебное пособие. Под ред. В.В. Шкарина, Р.С. Рахманова. Н. Новгород, 2009;160 с. [Potekhina N.N. Fundamentals of retrospective analysis of infectious diseases: textbook. Edited by V.V. Shkarin, R.S. Rakhmanov. N. Novgorod, 2009; 160 p. (In Russ)].
12. Методические указания МУ 3.5.2644-10. 3.5 «Организация и проведение дезинфекционных мероприятий при дерматомикозах» от 02.06.2010 г. Электронный ресурс. Москва, 2010. [Guidelines MU 3.5.2644-10. 3.5 "Organization and conduct of disinfection measures for dermatomycosis" from 02.06.2010 Electronic resource. Moscow, 2010 (In Russ)]. URL: [http://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT\\_ID=4828](http://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4828).
13. Приказ МЗ Свердловской области № 227-п от 07 марта 2014 г. «Об организации мероприятий по заключительной дезинфекции и обследованию контактных в очагах инфекционных заболеваний на территории Свердловской области». Электронный ресурс. Екатеринбург, 2014. [Order of the Ministry of health of the Sverdlovsk

region No. 227-p of March 07, 2014 "About the organization of measures for final disinfection and examination of contact persons in the centers of infectious diseases in the territory of the Sverdlovsk region". Electronic resource. Yekaterinburg, 2014]. URL: <http://docs.pravo.ru/document/view/59555855/67608965/>

14. Руквишникова В.М. Современные особенности клиники и лечения микроспории. Лечащий врач. 2001; 4: 8-12. [Rukavishnikova V.M. Modern features of the clinic and treatment of microsporia. The attending physician. 2001; 4: 8-12 (In Russ)].

15. Корсунская И.М., Тамазова О.Б. Дерматофития с поражением волос у детей. М., 2005; 31 с. [Korsunskaya I.M., Tamrazova O.B. Dermatophytosis with affection of hair in children. М., 2005; 31 p. (In Russ)].

*Поступила в редакцию журнала 06.05.2020*

*Рецензент: Л.П. Котрехова*

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕРМАТОМИКОЗОВ СТОП НА ФОНЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Хисматуллина З.Р. (зав. кафедрой)\*, Рустамханова Г.Р. (аспирант)

Башкирский государственный медицинский университет (кафедра дерматовенерологии с курсами дерматовенерологии и косметологии ИДПО), Уфа, Республика Башкортостан, Россия

*На сегодняшний день лечение дерматомикозов стоп является важной медицинской и социальной проблемой. Известно, что спектр возбудителей дерматомикоза стоп зависит от географического положения, экологического состояния региона, профессиональной принадлежности обследуемых, а также заболеваний, предрасполагающих к развитию грибковой инфекции. Лица с нарушениями углеводного и липидного обмена наиболее подвержены заражению микотической инфекцией. Одним из таких заболеваний является неалкогольная жировая болезнь печени, которая на сегодняшний день занимает лидирующее положение в структуре патологий печени. В этом плане актуально изучение состава грибковой биоты, клинических особенностей у больных дерматомикозом стоп с сопутствующей неалкогольной жировой болезнью печени.*

**Ключевые слова:** дерматомикозы стоп, состав грибковой биоты, клинические особенности, неалкогольная жировая болезнь печени

## EPIDEMIOLOGICAL AND CLINICAL FEATURES OF DERMATOMYCOSIS OF THE FEET ON THE BACKGROUND OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Khismatullina Z.R. (head of the department), Rustamkhanova G.R. (postgraduate student)

Bashkir State Medical University (Department of Dermatovenereology with Courses of Dermatovenereology and Cosmetology Institute of Additional Vocational Education), Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

*Today, the treatment of foot dermatomycosis is an important medical and social problem. It is known that the spectrum of causative agents of dermatomycosis of the feet depends on the geographical location, the ecological state of the region, the professional affiliation of the subjects, as well as*

*diseases predisposing to the development of fungal infection. Persons with impaired carbohydrate and lipid metabolism are most susceptible to infection with mycotic infection. One of these diseases is non-alcoholic fatty liver disease, which today occupies a leading position in the structure of liver pathologies. In this regard, it is relevant to study the composition of the fungal biota, clinical features in patients with foot dermatomycosis with concomitant non-alcoholic fatty liver disease.*

**Key words:** dermatomycosis of the feet, the composition of the fungal biota, clinical features, non-alcoholic fatty liver disease

### ВВЕДЕНИЕ

Дерматомикоз стоп (ДС) – одно из наиболее распространенных грибковых заболеваний, проявляющееся поражением гладкой кожи и ногтевых пластинок стоп [1]. Заболеваемость ДС продолжает оставаться достаточно высокой, несмотря на большой объем проводимых лечебно-профилактических мероприятий [2]. В развитых странах ДС регистрируют у 5-15% взрослого населения [3,4]. Лица с нарушениями углеводного и липидного обмена, в частности с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП), наиболее подвержены заражению грибковой инфекцией [5]. Распространенность НАЖБП носит пандемический характер и встречается у 37% пациентов, обращающихся к врачам общей практики и терапевтам [6].

Таким образом, изучение эпидемиологических и клинических особенностей у больных ДС с НАЖБП является актуальной задачей микологии.

**Цель исследования** – изучение состава грибковой биоты, клинических особенностей у больных ДС с НАЖБП.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находилось 67 больных дерматомикозом стоп с НАЖБП (основная группа), мужчин – 31 (46%), женщин – 36 (54%), возраст – от 30 до 79 лет. Большую часть обследованных составили лица от 60 до 69 лет – 29 человек (43,3%), средний возраст –  $59,2 \pm 6,9$  года ( $p < 0,05$ ).

Критериями включения пациентов в исследование (основная группа) было наличие:

- дерматомикоза стоп с поражением ногтевых пластинок (подтвержденного лабораторно – микроскопически и культурально) у мужчин и женщин в возрасте 20-70 лет;
- НАЖБП, верифицированной современными методами диагностики;
- подписанного информированного согласия.

Группу сравнения составили 15 человек с ДС без НАЖБП. Всем больным обеих групп было проведено микроскопическое и культуральное микологическое исследования.

В соответствии с классификацией N. Zaias (1972 г.) онихомикоз был разделен на 3 группы: поверх-

\* Контактное лицо: Хисматуллина Зарема Римовна, e-mail: hzr07@mail.ru

ностная (поверхностная белая), дистальная (дистально-латеральная) подногтевая, проксимальная подногтевая. В качестве клинической классификации микозов гладкой кожи стоп использовали материалы ЦНКВИ, в соответствии с которой по клиническим проявлениям различали сквамозную, сквамозно-гиперкератотическую, интертригинозную и дисгидротическую формы.

Математико-статистическую обработку результатов выполняли с использованием модулей программного пакета «Statistica» (Реброва, 2002). Различия данных считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У большинства больных ДС с НАЖБП – 53 человека (79,1%) выявляли дистальную подногтевую форму, у 14 (20,9%) – проксимальную подногтевую форму (в группе сравнения – 66,7% и 33,3% соответственно). Ногтевые пластинки имели неровную поверхность, переход в тотальную форму поражения отмечали в 52,2% случаев, тогда как в группе сравнения – в 26,7%. Поражение I пальца стопы имело место в 80,6% всех случаев (в группе сравнения – 53,3%). У большинства больных в основной группе наблюдали подногтевой гиперкератоз (67,2%), тогда как в группе сравнения он составил 33,3%. Распределение значений КИОТОС у больных ониомикозом стоп с НАЖБП было следующим: 9-12 – 10,4%, 12-16 – 44,8%, 16-20 – 28,4%, больше 20 – 16,4%. Среднее количество пораженных ногтей –  $5,8 \pm 0,07$ .

Дистальная подногтевая форма ониомикоза стоп у 53 (79,1%) больных ДС с НАЖБП начиналась с краевого поражения сразу нескольких ногтевых пластин с дальнейшим переходом на другие: у 46 (68,7%) – со свободного конца, у 21 (31,3%) – с боковых краев ногтевых пластинок. Цвет пораженных ногтевых пластинок у 49 (92,5%) пациентов с ониомикозом стоп приобрел желтоватый цвет, у 4 (7,5%) – окрасился в беловато-желтоватый цвет. Края ногтевых пластин у всех больных были неровными, крошились – у 41 (77,4%), истончились – у 12 (22,6%), у 38 (71,7%) – наблюдали подногтевой гиперкератоз, вследствие чего ногтевые пластинки имели утолщенный вид.

Проксимальная подногтевая форма ониомикоза стоп у больных ДС с НАЖБП выявлена у 14 (20,9%) человек, проявляющаяся поражением проксимального валика, матрикса и ногтевого ложа. Ногтевые пластинки теряли блеск, имели неровную поверхность в виде поперечных бороздок и меняли цвет. Цвет пораженных ногтевых пластинок у 12 (85,7%) пациентов приобрел желтоватый цвет, у 2 (14,3%) – окрасился в белесовато-желтоватый цвет.

У 54 (80,6%) больных ониомикозом стоп с НАЖБП была поражена кожа стоп (в группе сравнения – 46,7%). Среди обследованных лиц с микозами

стоп с НАЖБП в 14 (20,9%) случаях диагностирована сквамозная форма микоза стоп, у 24 (35,8%) – сквамозно-гиперкератотическая, у 21 (31,4%) – интертригинозная, у 8 (11,9%) – дисгидротическая. Наиболее часто выявляли интертригинозную и сквамозно-гиперкератотическую клинические формы микоза стоп, тогда как в группе сравнения превалировала сквамозная форма (57,1%). Сквамозно-гиперкератотическая форма характеризовалась утолщением рогового слоя эпидермиса с увеличением глубины трещин и кожных борозд, наличием шелушения (от мелкого до крупнопластинчатого) и распространением на боковые и тыльные поверхности стоп. Среди субъективных ощущений больные отмечали зуд и жжение в очагах поражения. Интертригинозная форма микоза стоп характеризовалась набуханием и мацерацией рогового слоя кожи в межпальцевых складках стоп с образованием в последующем поверхностных эрозий и глубоких трещин. Пациенты из субъективных ощущений отмечали зуд, жжение, болезненность пораженных участков кожи.

У всех обследованных лиц был идентифицирован вид гриба при посеве на среду Сабуро. Отметим, что в исследование были взяты только те пациенты с ДС, у которых в результате культурального исследования был идентифицирован вид гриба.

При культуральном исследовании из 67 больных ДС с НАЖБП у 52 (77,6%) возбудителем микотической инфекции был *Trichophyton rubrum*, который в 7,7% случаев высевали в ассоциации с *Candida* spp. У 15 (22,4%) пациентов возбудителем ДС был *Trichophyton mentagrophytes*, который, в свою очередь, также обнаружили в 13,3% случаях в ассоциации с *Candida* spp. (в группе сравнения: у 11 (73,3%) – верифицирован *T. rubrum*, у 4 (26,7%) – *T. mentagrophytes*). В данном случае выявляемые при посеве мицелиальные грибы-недерматомицеты являлись контаминатами. Первичное поражение ногтей вызывают дерматомицеты, дрожжи колонизируют ногти вторично, возможно, вследствие сопутствующей патологии гепатобилиарной системы.

Таким образом, основная роль в этиологии ДС с НАЖБП отводится грибам *T. rubrum*. Основными факторами патогенности выделенных грибов, вероятно, является: снижение иммунной защиты организма у больных ДС вследствие имеющейся патологии печени; способность *T. rubrum* к выработке активных веществ, подавляющих рост других видов возбудителей дерматомикозов, а также возможности гриба к инвазивному росту и образованию устойчивых спорных форм.

## ВЫВОДЫ

1. У больных ониомикозом стоп с НАЖБП преобладает дистальная подногтевая форма поражения (79,1%), в большинстве случаев – с гиперкерато-

зом (67,2%) и тотальным поражением ногтевых пластинок (52,2%), в отличие от пациентов с ДС без НАЖБП (гиперкератоз – у 33,3%, тотальное поражение ногтевых пластин – у 26,7%).

2. В исследуемой группе больных ДС с НАЖБП наиболее часто выявляли интертригинозную (31,4%) и сквамозно-гиперкератотическую (35,8%) клинические формы микоза стоп, тогда как в группе сравнения пациентов с ДС без НАЖБП лидирующее положение занимала сквамозная форма микоза стоп (57,1%).

3. Основная роль в этиологии ДС с НАЖБП отводится *T. rubrum* (77,6%), что связано с основными факторами патогенности данных грибов и снижением иммунной резистентности организма вследствие имеющейся патологии печени.

4. Наличие НАЖБП у больных ДС отягощает течение грибковой инфекции, обуславливая повышение интенсивности и площади распространения патологического процесса, дополнительной контаминацией грибами *Candida* spp. ногтевых пластин стоп, пораженных дерматомицетами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Соколова Т.В., Малярчук Т.А., Газарян О.Л. Микозы стоп – эпидемиологическая проблема дерматологии. РМЖ. 2014; 22 (8): 571-577. [Sokolova T.V., Malyarchuk T.A., Gazaryan O.L. Feet mycoses – epidemiological problem of dermatology. RMJ. 2014; 22 (8): 571-577 (In Russ)].
2. Соколова Т.В., Монте Росель К.В., Малярчук А.П., Малярчук Т.А. Эффективность лечения микозов стоп топическими антимикотиками разных фармакологических групп. Эффективная фармакотерапия. 2017; 40: 24-30. [Sokolova T.V., Montes Rosel K.V., Malyarchuk A.P., Malyarchuk T.A. Effectiveness of feet mycoses treatment with topical antimicrobics of different pharmacological groups. Effective pharmacotherapy. 2017; 40: 24-30 (In Russ)].
3. Nenoff P., Krüger C., Ginter-Hanselmayer G., Tietz H.-J. Mycology – an update. Part 1: Dermatofungi: causative agents, epidemiology and pathogenesis. J. Dtsch. Dermatol. Ges. 2014; 12 (3): 188-209. doi.org/10.1111/ddg.12245
4. Viegas C., Sabino R., Parada H., et al. Diagnosis of tinea pedis and onychomycosis in patients from Portuguese National Institute of Health: a four-year study. Saúde & Tecnologia. 2013; 10: 36-41. ISSN: 1646-9704
5. Шамли Н., Разнатовский К.И. Применение средств, корригирующих липидный обмен у больных онихомикозом стоп. Проблемы медицинской микологии. 2011; 13 (4): 29-31. [Shamli N., Raznatovsky K.I. Use of lipid metabolism correcting drugs in patients with feet onychomycosis. Problems in Medical Mycology. 2011; 13 (4): 29-31. (In Russ)].
6. Цыганкова О.В., Бадин А.Р., Старичков А.А., Ложкина Н.Г. Неалкогольная жировая болезнь печени – болезнь цивилизации или синдром современности? РМЖ. Медицинское обозрение. 2018;3: 23-28. [Tsygankova O.V., Badin A.R., Starichkov A.A., Lozhkina N.G. Non-alcoholic fatty liver disease – a disease of civilization or a syndrome of modernity? RMJ. Medical review. 2018; 3: 23-28 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 20.05.2020

Рецензент: Л.П. Котрехова

## УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТОК *RHIZOPUS ARRHIZUS* В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ

Васильева Н.В. (директор НИИ, зав. кафедрой), Степанова А.А. (зав. лаб.), Богомолова Т.С. (зав. лаб.), Чилина Г.А. (зав. лаб.), Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), Босак И.А. (с.н.с.), Выборнова И.В. (н.с.), Аак О.В. (в.н.с.), Соловьева Г.И. (в.н.с.), Павлова И.Э. (н.с.)

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

*На продольных полутонких эпоксидных срезах средней части зрелой колонии Rhizopus arrhizus A. Fisch. видно, что толщина воздушного и субстратного мицелия идентична; плотность расположения вегетативных гиф в субстратном мицелии выше, чем в воздушном. Колонии характеризуются обильным спороношением. Морфогенез клеток вегетативного мицелия R. arrhizus в условиях культуры сопровождается синтезом запасных веществ, пролиферацией митохондрий, а также формированием толстой клеточной стенки. Клетки субстратного мицелия синтезировали намного больше запасных липидов и, помимо них, включения гранул полисахаридов в вакуолях; также они формировали митохондриальный ретикулум, чье присутствие свидетельствует о высоком уровне их метаболизма.*

**Ключевые слова:** *in vitro*, *Rhizopus arrhizus*, компоненты клеток, световая и трансмиссионная электронная микроскопия

## ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF *RHIZOPUS ARRHIZUS* CELLS IN CULTURE CONDITIONS

Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department), Stepanova A.A. (head of the laboratory), Chilina G.A. (head of the laboratory), Bogomolova T.S. (head of the laboratory), Avdeenko Y.L. (senior scientific collaborator), Bosak I.A. (senior scientific collaborator), Vybornova I.V. (scientific collaborator), Aak O.V. (leading scientific collaborator), Solovyeva G.I. (leading scientific collaborator), Pavlova I.E. (scientific collaborator)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

*Longitudinal semi-thin epoxy sections of the middle part of the mature colony Rhizopus arrhizus A. Fisch. appear that*

*the thickness of the aerial and substrate mycelium was identical; the density of vegetative hyphal cells of substrate mycelium was higher than in aerial. Colonies were characterized by abundant sporulation. Morphogenesis of R. arrhizus the vegetative mycelium cells in culture condition was accompanied by the synthesis of storage substances, proliferation of mitochondria, and the formation the thick cell wall. The cells of substrate mycelium cells synthesized much more storage lipids and in addition polysaccharide granules in the vacuoles; they also developed the mitochondrial reticulum, which presence indicate the high level of their metabolism.*

**Key words:** cells components, *in vitro*, *Rhizopus arrhizus*, light- and transmission electron microscopy

## ВВЕДЕНИЕ

Ранее нами была изучена в условиях культуры ультраструктура разных типов клеток широко распространенного вида патогенного мукоромицета *Rhizopus arrhizus* A. Fisch. в сканирующем электронном микроскопе [1]. В литературе данные по тонкому строению клеток вегетативного мицелия данного вида гриба отсутствуют, имеются лишь сведения по тонкому строению зрелых и прорастающих спорангиоспор [2, 3].

Цель работы – изучение микроморфологии *R. arrhizus* с помощью методов световой и трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). Полученные данные будут служить в качестве контроля для последующего исследования тканевых форм гриба в ТЭМ при моделировании экспериментального мукоромикоза, что важно для понимания закономерностей его преобразований при переходе в тканевую форму, выяснения одного из основных фундаментальных вопросов морфогенеза – каким образом преобразуется внутреннее строение клеток гриба и какие компоненты клетки активизируются.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Изучали штамм (РКПГФ-1537) *R. arrhizus* A. Fisch. (Российская коллекция патогенных грибов, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина), выделенный из бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) пациента с диагнозом «острый миелоидный лейкоз». Идентификацию гриба проводили путем таргетного ДНК-секвенирования с интерпретацией согласно протоколу CLSI MM14-A по локусам внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) и D1/D2-домена рибосомальной РНК большой субъединицы [4, 5].

Для ТЭМ кусочки питательной среды с частью 3 и 5 суточных колоний гриба фиксировали по методике, приведенной нами ранее [6]. С эпоксидных блоков на приборе Ругамитоме 11800 (ЛКВ, Швеция) готовили полутонкие эпоксидные срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали толуидиновым синим. Съемку эпоксидных срезов осуществляли в световом микроскопе Leica DM LB2 со встроенной камерой DFC320 (Leica, Германия), тогда как ультратонких –

в трансмиссионном электронном микроскопе Jem 100 SX (Jeol, Япония).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Строение клеток культур на полутонких эпоксидных срезах. При изучении продольных по-

лутонких эпоксидных срезов средней части зрелой 5 дневной колонии *R. arrhizus* выявили, что толщина воздушного и субстратного мицелия была идентичной (Рис. 1 а).

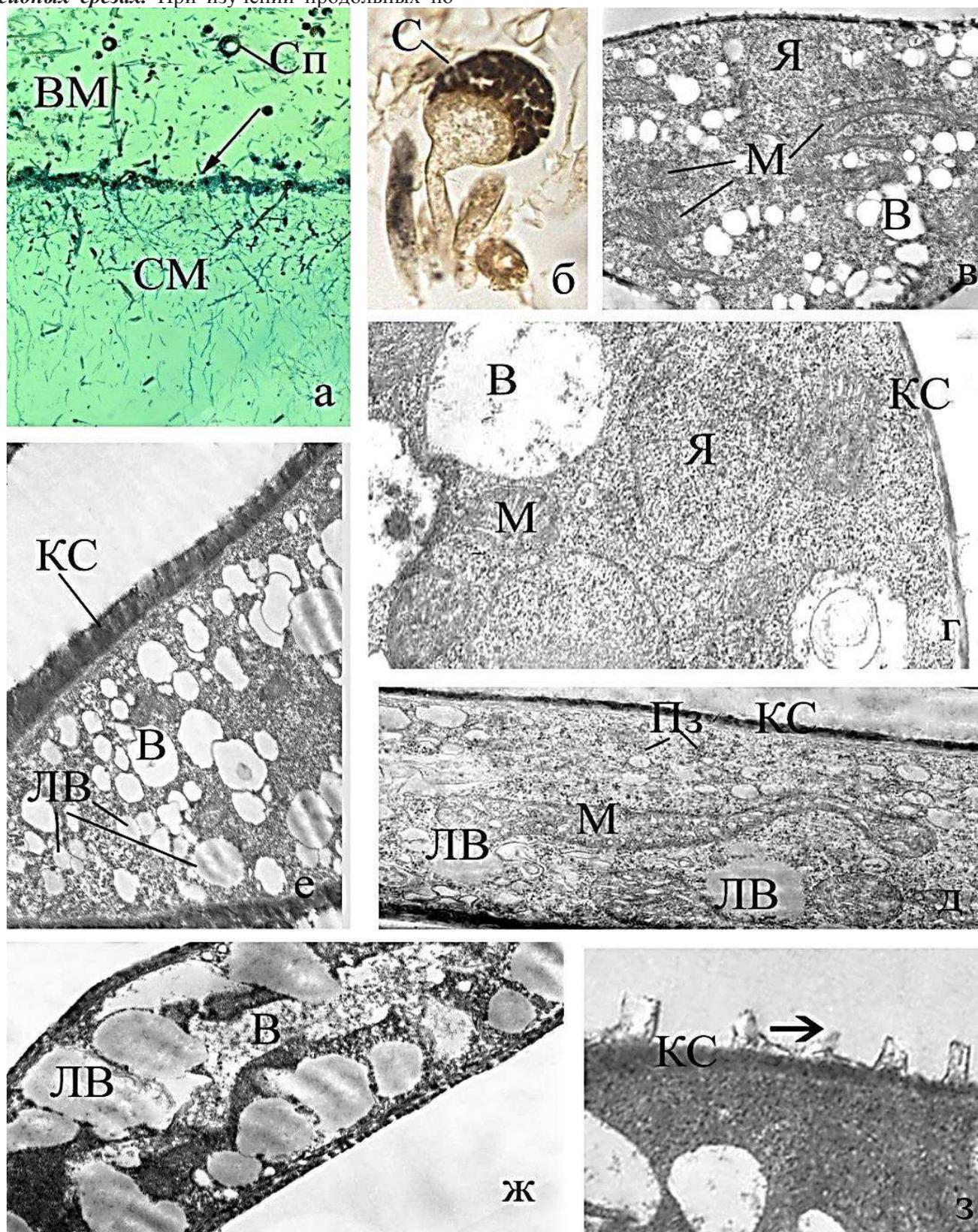


Рис. 1. Строение клеток культур *R. arrhizus* (РКПГФ-1537) на полутонких эпоксидных (а, б) и ультратонких срезах (в-з). Ув.: а – х 400; б – х 1000; б, е, д, ж – х 10 000; г, з – х 20 000.

В воздушном и субстратном мицелии вегетативные гифы рыхло и хаотично ориентированы; плотность их расположения в субстратном мицелии несколько выше, чем в воздушном. В воздушном мицелии довольно часто наблюдали спорангии на разных стадиях развития, однако зрелые доминировали (Рис. 1 а). Гифы вегетативного мицелия, располагающиеся непосредственно на поверхности твердой питательной среды, формируют небольшой по толщине слой, четко выявляющийся ввиду их высокой плотности локализации (Рис. 1 а, стрелка). Спорангиоспоры после лизиса наружной стенки спорангия долго остаются собранными в плотную группу и локализуются в апикальной части спорангия, что было нами ранее показано при изучении колоний данного вида гриба в сканирующем электронном микроскопе [1].

**Строение клеток культур в ТЭМ.** Молодые гифы воздушного и субстратного мицелия изученных культур богаты цитозолем высокой электронной плотности (Рис. 1 в). Ядра, как правило, приурочены к клеточной стенке. Они одиночные или в группах по 2-3 (Рис. 1 в, г), округлой (2,3 мкм) или эллипсоидной (2,3-2,5 мкм) формы, содержат диффузный хроматин. Оболочка ядра агранулярная. Ядрышко – одно (0,2 мкм), сдвинуто к оболочке ядра, содержит фибриллярный и гранулярный компоненты, представленные в равной мере.

Вакуоли мелкие, светлые, одиночные или в небольших группах (Рис. 1 в, е), расположены в толще цитозоля и равномерно распределены по площади среза клетки. Митохондрии локализуются в толще цитозоля, многочисленные, имеют вид довольно протяженных профилей (Рис. 1 в- д). Они с плотным матриксом и большим числом хаотично ориентированных светлых крист. В клетках субстратного мицелия профили этих органелл достигают значительных размеров (Рис. 1 д). При изучении серийных срезов клеток субстратного мицелия обнаружено наличие в них одной гигантской органеллы (так называемого «митохондриального ретикулума») – довольно редкого компонента грибной клетки. Среди мицелиальных видов патогенных грибов, выращенных *in vitro*, он был выявлен в клетках субстратного мицелия *Scedosporium apiospermum* [7], *S. aurantiacum* [8], *Pseudallescheria boydii*, *P. ellipsoidea* и *P. angusta* [9]. Только у *S. aurantiacum* [8] был описан редкий случай формирования «митохондриального ретикулума» клетками воздушного мицелия, что свидетельствует о высоком уровне метаболической активности данного вида гриба. Для вегетативных гиф *Aspergillus* spp. [6], инфицирующих ткани легких пациентки, также характерным было наличие «митохондриального ретикулума».

Из компонентов эндомембранной системы встречаются мелкие светлые секреторные пузырьки,

обычно расположенные вблизи клеточной стенки. Короткие, слегка извилистые, слабоконтрастные цистерны агранулярного эндоплазматического ретикулума наблюдали редко. Одиночные цистерны Гольджи и микротельца отсутствовали.

Плазматическая мембрана трехслойная, отличается высоким контрастом, обычно плотно прилегает к клеточной стенке. В молодых гифах клеточные стенки равномерно тонкие (0,02 мкм), высокой электронной плотности, без видимой структурированности (Рис. 1 г-з). Отличительной чертой строения клеточной стенки гиф субстратного мицелия было наличие невысоких (0,02- 0,03 мкм), дискретных, рыхло расположенных выростов (Рис. 1 з, стрелка) умеренной электронной плотности.

По мере созревания гиф вегетативного мицелия в них происходит синтез запасных веществ, в цитозоле – синтез запасных липидных включений. Выявлены различия в степени насыщенности этим типом запасного вещества. В гифах воздушного мицелия запасные липиды мелкие, светлые, одиночные или в немногочисленных группах, приурочены к клеточной стенке (Рис. 1 е). В гифах субстратного мицелия запасные липиды равномерно распределены по площади среза, крупные (0,2-0,3 мкм), умеренной электронной плотности, плотно контактирующие друг с другом (Рис. 1 ж). В вакуолях некоторых гиф субстратного мицелия присутствует умеренное количество мелких, темных полифосфатных гранул (Рис. 2 б). В остальном строение содержимого гиф воздушного и субстратного мицелия было сходным.

Крайне редко в гифах, подстилающих спорангиофоры, можно было наблюдать прямые, тонкие (0,02 мкм), трехслойные (с темными наружными и светлым центральным слоем) септы. Аналогичного строения септы были ранее описаны в гифах вегетативного мицелия *L. corymbifera* [10], выращенных *in vitro*.

С возрастом гиф вегетативного мицелия толщина латеральной клеточной стенки увеличивается в 2-3 раза (Рис. 2 в, д). Внутреннее содержимое наружных выростов, характерных для клеточных стенок гиф погруженного мицелия, просветлялось, частота их распределения уменьшалась (Рис. 1 в, стрелка). Переход клеток вегетативного мицелия к старению сопровождается усилением уровня их вакуолизации (Рис. 2 а, г), сокращением числа органелл и запасных веществ. Ядра теряют групповое расположение, хроматин из их содержимого исчезает, просвет оболочки ядра сильно расширяется и становится неравномерным по толщине, ядрышко исчезает. В митохондриях просветляется матрикс (Рис. 2 в) и сокращается число крист. В гифах без цитозоля (Рис. 2 в) долго сохраняются запасные липиды, а также разрушающиеся ядра и митохондрии.

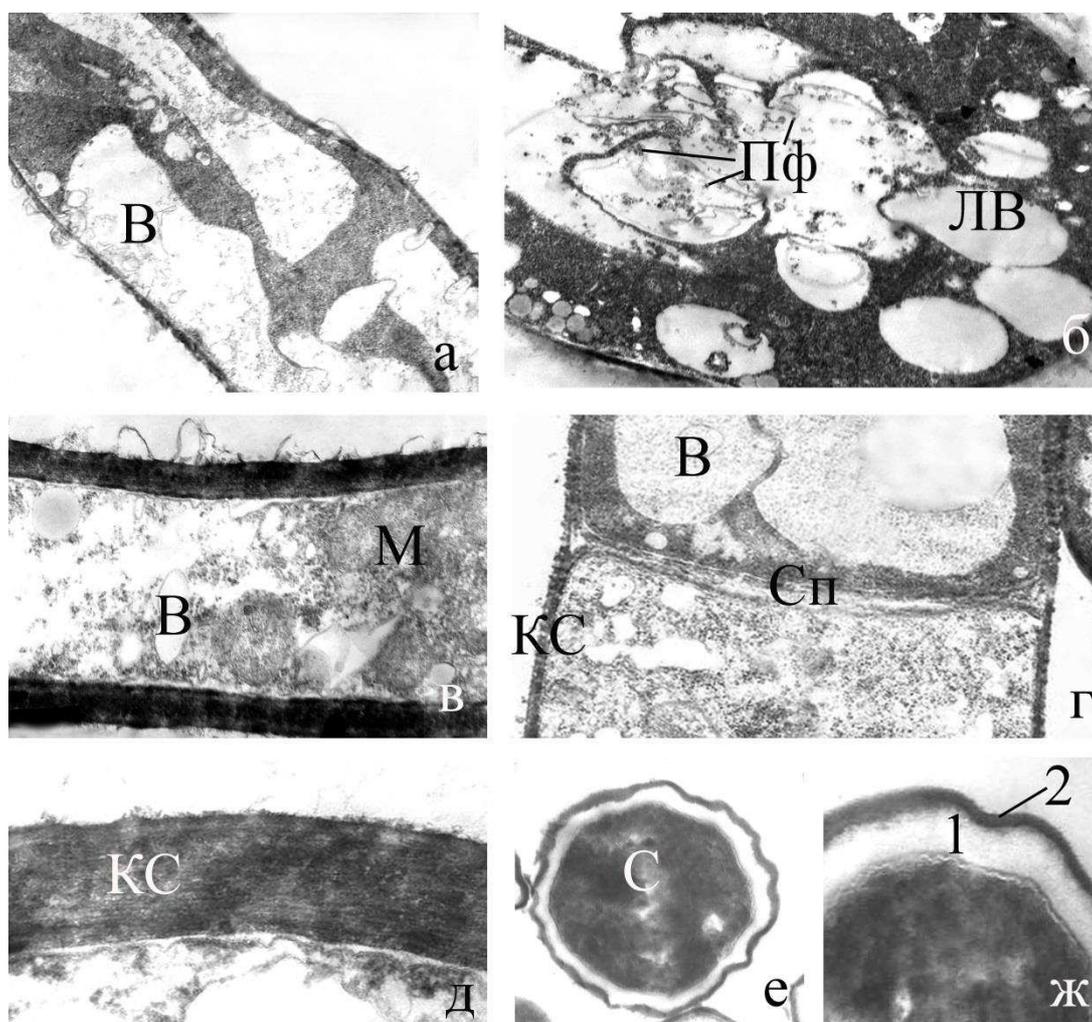


Рис. 2. Ультраструктура клеток вегетативного мицелия культур *R. arrhizus* (РКПГФ-1537) (а-г) и зрелых спорангиоспор (е, ж) в трансмиссионном электронном микроскопе. Ув.: а, в – х 10000; б – х 1000; б, е, д, ж – х 10 000; о, г – х 15 000; д – ж - 20000.

Зрелые спорангиоспоры округлой (5,0-6,0 мкм) или эллипсоидальной формы (4-5,2 x 7-8 мкм), часто располагаются в многочисленных группах, с плотным содержимым, без видимых отложений запасных веществ (Рис. 2 е). Оболочка (спородерма) спорангиоспор двухслойная, с широким светлым внутренним слоем (Рис. 2 ж, 1) и с тонким темным однородным наружным слоем (Рис. 2 ж). Спородерма аналогичного строения была характерна для зрелых спорангиоспор *L. corymbifera* [10].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что морфогенез гиф вегетативного мицелия *R. arrhizus* в условиях культуры сопровож-

дается синтезом запасных веществ, пролиферацией митохондрий, а также формированием толстой меланифицированной клеточной стенки. Клетки субстратного мицелия, в отличие от клеток воздушного, синтезировали намного больше запасных липидов и, помимо них, включения гранул полисахаридов в вакуолях; они формировали митохондриальный ретикулум. Выявленные особенности строения гиф субстратного мицелия являются показателями высокого уровня их метаболизма.

Данная работа выполнена в рамках Госзадания «Изучение морфо-биологических особенностей мукоромицетов-возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитом» (2019-2021).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. и др. Сканирующая электронная микроскопия клеток культур *Lichtheimia corymbifera* и *Rhizopus arrhizus*. Проблемы медицинской микологии. 2020; 22 (1): 58-63 [Vasilyeva N.V., Stepanova A.A., Chilina G.A., et al. Scanning electron microscopy of the cultural cells of *Lichtheimia corymbifera* and *Rhizopus arrhizus*. Problems in Medical Mycology. 2020; 22 (1): 58-63 (In Russ)]. DOI:10.24412/1999-6780-2020-1-58-63
2. Ekundayo J.A., Carlile M.J. The germination of sporangiospores of *Rhizopus arrhizus*; spore swelling and germ-tube emergence. J. Gen. Microbiol. 1964; 35: 261-269. doi.org/10.1099/00221287-35-2-261

3. *Ekundayo J.A.* Further studies on germination of sporangiospores of *Rhizopus arrhizus*. J. Gen. Microbiol. 1966; 42: 283-291. doi.org/10.1099/00221287-42-2-283
4. *CLSI.* Interpretive criteria for identification of bacteria and fungi by DNA target sequencing; approved guideline. CLSI document MM14-A. Wayne, PA: Clin. Lab. Stands Inst. 2008; 76 p.
5. *Михайлова Ю.В., Лавникевич Д.М., Чилина Г.А. и др.* Молекулярная идентификация клинических изолятов *Aspergillus* и *Zygomycetes* из Санкт-Петербурга. Успехи медицинской микологии. 2013; 11: 37-39. [Mikhaylova Y.V., Lavnikovich D.M., Chilina G.A., et al. Molecular identification of clinical isolates of *Aspergillus* and *Zygomycetes* from Saint Petersburg. Advances in Medical Mycology. 2013; 11: 37-39 (in Russ)].
6. *Степанова А.А., Васильева Н.В., Чжан Ф. и др.* Ультраструктурная организация *Aspergillus* spp. в тканях легких пациентки. Проблемы медицинской микологии. 2018; 20 (2): 29-39. [Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Zhang F., et al. Ultrastructural organization of *Aspergillus* spp. in the patient with lung tissues. Problems in Medical Mycology. 2018; 20 (2): 29-39 (In Russ)].
7. *Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Bogomolova T.S., Chilina G.A.* Cytological study of the *in vitro* growing cells of vegetative mycelium of *Scedosporium apiospermum*. Problems in Medical Mycology. 2017; 19 (1); 24-30.
8. *Stepanova A.A., Yamaguchi M.M., Chibana H., et al.* Comparative ultrastructural analysis of the *in vitro* growing hyphal cells of *Scedosporium aurantiacum*. Problems in Medical Mycology. 2017; 19 (3); 18-25.
9. *Степанова А.А., Васильева Н.В.* Электронно-микроскопическое изучение выращенных *in vitro* клеток гиф *Pseudallesheria boydii*, *P. ellipsoidea* и *P. angusta*. Проблемы медицинской микологии. 2019; 21 (1); 34-40. [Stepanova A.A., Vasilyeva N.V. Electron microscopic study of hyphae cells grown *in vitro* *Pseudallesheria boydii*, *P. ellipsoidea* and *P. angusta*. Problems in Medical Mycology. 2019; 21 (1); 34-40 (In Russ)].
10. *Васильева Н.А., Степанова А.А., Богомолова Т.С. и др.* Цитологическое изучение *Lichtheimia corymbifera* *in vitro*. Проблемы медицинской микологии. 2019; 21 (3): 3-8. [Vasilyeva N.A., Stepanova A.A., Bogomolova T.S., et al. Cytological study of *Lichtheimia corymbifera* *in vitro*. Problems in Medical Mycology. 2019; 21 (3): 3-8 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала: 15.05.2020

Рецензент: О.Д. Васильев

## ПРОТИВОГРИБКОВОЕ ДЕЙСТВИЕ ХОЛОДНОЙ ГЕЛИЕВОЙ ПЛАЗМЫ НА *CANDIDA* SPP. В ЭКСПЕРИМЕНТАХ *IN VITRO*

<sup>1</sup>Махрова Т.В. (доцент кафедры)\*,  
<sup>1</sup>Заславская М.И. (профессор кафедры),  
<sup>2</sup>Галка А.Г. (н.с.), <sup>2</sup>Костров А.В. (зав. лаб.)

<sup>1</sup>Приволжский исследовательский медицинский университет; <sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук, Нижний Новгород, Россия

*Микромицеты как возбудители инфекций человека, в том числе связанных с оказанием медицинской помощи, имеют ряд отличительных особенностей, создающих трудности в выборе оптимальных способов противогрибкового воздействия в клинической медицине и санитарии. Многие из них способны формировать биопленки. Кроме того, в настоящее время наблюдают рост частоты выделения антимикотикоустойчивых изолятов среди важнейших возбудителей оппортунистических микозов, а в ряде случаев сообщают о невысокой эффективности отдельных дезинфектантов против них. В связи с этими обстоятельствами продолжается поиск новых факторов и способов противогрибковой обработки.*

*В качестве одного из перспективных антимикробных факторов нами изучена «холодная» (низкотемпературная) гелиевая плазма атмосферного давления.*

*Исследовали действие гелиевой плазмы на *Candida* spp. Выраженность антимикробного эффекта плазмы на грибы зависела от режима обработки и объема обрабатываемых образцов. Приведены данные о чувствительности к холодной гелиевой плазме *Candida albicans* в сравнении с *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*), а также с бактериями.*

**Ключевые слова:** *Candida*, холодная гелиевая плазма, противогрибковая обработка

## ANTIFUNGAL ACTION OF COLD HELIUM PLASMA ON *CANDIDA* SPP. IN EXPERIMENTS *IN VITRO*

<sup>1</sup>Makhrova T.V. (associate professor of the department), <sup>1</sup>Zaslavskaya M.I. (professor of the department), <sup>2</sup>Galka A.G. (scientific collaborator), <sup>2</sup>Kostrov A.V. (head of the laboratory)

<sup>1</sup>Privolzhsky Research Medical University; <sup>2</sup>Federal Research Center Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russia

\* Контактное лицо: Махрова Татьяна Владимировна,  
e-mail: mahrova14@mail.ru

*Micromycetes as causative agents of human infections, including those associated with the provision of medical care, have a number of distinctive features that create difficulties in choosing the optimal methods of antifungal action in clinical medicine and sanitation. Many of them are capable to form biofilms. Besides currently there is an increase in the frequency of isolation of antimycotic-resistant isolates among the most important pathogens of opportunistic mycoses, and in a number of cases, the low effectiveness of certain disinfectants against them is reported. In connection with these circumstances, the search for new factors and methods of antifungal treatment is required.*

*As one of the promising antimicrobial factors, we studied cold (low-temperature) helium plasma at atmospheric pressure.*

*The effect of helium plasma on *Candida* spp. was investigated. The severity of the antimicrobial effect of plasma on fungi depended on the treatment regime and the volume of the processed samples. The data on the sensitivity to cold helium plasma of *Candida albicans* in comparison with *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*), as well as with bacteria are presented.*

**Key words:** *Candida*, cold helium plasma, antifungal treatment

### ВВЕДЕНИЕ

Инфекции, вызванные условно-патогенными микромицетами, вносят существенный вклад в заболеваемость как иммунокомпрометированных пациентов, так и людей без выраженных дефектов иммунитета [1, 2]. Среди микотических инфекций у пациентов обеих категорий одну из доминантных позиций по частоте занимают различные формы кандидоза. Одновременно *Candida* spp. и близкие к ним дрожжи входят в четверку «лидирующих» возбудителей заболеваний, связанных с оказанием медицинской помощи [3]. Данные микромицеты отличает их полиадаптивность: способность колонизировать различные биотопы организма человека, сохранять жизнеспособность при передаче в лечебно-профилактических учреждениях с участием медицинского персонала, обрастать различные искусственные материалы (в том числе – имплантированные в тело человека) с формированием биопленок. Кроме того, грибы рода *Candida*, в зависимости от состояния макроорганизма хозяина, вызывают наиболее «широкий диапазон» патологических состояний, который не характерен для других микромицетов. По совокупности этих факторов *Candida* spp. являются критически значимыми модельными объектами в разработке мер борьбы с оппортунистическими инфекциями на стадии экспериментальных разработок.

В направлении поиска альтернативных факторов противогрибкового воздействия представляет интерес применение «холодной» (низкотемпературной) плазмы атмосферного давления – ионизированного газа, охлажденного до температуры 30–40 °С [4, 5]. Для некоторых видов обработки «холодной»

плазмой показан не только антимикробный эффект, но также возможность локального воздействия на ткани человека в ходе реализации терапевтических процедур [6-8]. При этом большинство работ посвящено исследованию аргоновой плазмы, а эффект гелиевой плазмы менее изучен [5, 6]. При экспериментальном сравнении гелиевой и аргоновой плазмы атмосферного давления обнаружено, что из-за особенностей формирования факела гелиевая плазма лишена недостатков аргоновой (неравномерная обработка поверхности и нежелательные локальные перегревы). Кроме того, в имеющихся работах описывают, прежде всего, антибактериальную активность низкотемпературной плазмы, связанную с прямым повреждением клеточной стенки бактерий [9, 10], тогда как воздействие на микромицеты исследовано недостаточно. Предполагается, что определение оптимального режима и механизмов антифунгального действия низкотемпературной гелиевой плазмы, а также исследование безопасности избранного режима генерации и обработки, позволит обосновать и расширить ее применение против микромицетов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали музейные штаммы *Candida albicans* 601, *C. albicans* 290, *C. parapsilosis* 907, *C. glabrata* 294, *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*) 583, *Staphylococcus aureus* 86M и *Escherichia coli* 210 из коллекции кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» (ФГБОУ ВО «ПИМУ»). Микромицеты выращивали на агаре Сабуро, бактерии – на мясо-пептонном агаре (МПА) (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), затем готовили взвесь микробных клеток в забуференном физиологическом растворе (ЗФР). Чистую культуру микроорганизмов трижды отмывали и готовили рабочие разведения от  $10^4$  до  $10^8$  КОЕ/мл в ЗФР.

В качестве источника низкотемпературной гелиевой плазмы был использован генератор, разработанный на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук» (ИПФ РАН). Характеристики генератора приведены в таблице 1.

Таблица 1

Характеристики генератора плазмы

Тип источника	Барьерный разряд
Газ	гелий
Мощность (средняя)	20 Вт
Рабочая частота	17 кГц
Скорость газовой прокачки	5 л/мин
Температура плазмы	42 °С

В зависимости от цели эксперимента микроорганизмы обрабатывали холодной гелиевой плазмой в

различных объемах и концентрациях. Время воздействия плазмой на объект – от 30 сек до 4 мин. Расстояние от источника плазмы до поверхности образцов составляло 2-5 см. Подвергали воздействию: а) микроорганизмы после посева на поверхность плотной питательной среды в чашке Петри; б) суспензию микробных клеток в емкости (планктонная форма). В качестве контроля использовали интактные, а также обработанные гелием микроорганизмы.

В первом варианте эксперимента  $10^8$  КОЕ/мл в ЗФР в объеме 0,1 мл засеивали «сплошным газоном» на плотную питательную среду в чашках Петри, затем воздействовали холодной гелиевой плазмой на поверхность агара. Применяли следующие режимы культивирования микроорганизмов: для *Candida* spp. – 48 ч при 28 °С на агаре Сабуро, для бактерий – 24 ч при 37 °С на МПА. Оценивали наличие и выраженность эффекта воздействия плазмы на тест-культуру путем измерения диаметра зоны отсутствия роста микроорганизма (диаметра эффективной зоны воздействия плазмы) в миллиметрах.

Во втором варианте эксперимента суспензию микробных клеток ( $10^4$  КОЕ/мл) в объеме 0,2 мл (в лунках полистиролового планшета) или в объеме 2 мл (в чашках Петри с диаметром 4 см) обрабатывали плазмой. Затем отбирали 0,1 мл микробной взвеси из экспериментальных и контрольных образцов и засеивали «сплошным газоном» на чашки Петри с плотной питательной средой. Микроорганизмы культивировали в вышеуказанных режимах, после инкубации подсчитывали количество выросших колоний на чашке. Рассчитывали кратность снижения количества колоний микроорганизмов и процент выживших клеток по сравнению с контролем. Все эксперименты проводили в трех повторах.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью программы Excel (Microsoft Inc), рассчитывая среднюю арифметическую и стандартную ошибку средней арифметической. Достоверность различий между средними величинами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента (уровень значимости  $p < 0,05$ ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования для оценки зависимости антифунгального эффекта холодной гелиевой плазмы от режимов ее воздействия использовали тест-культуру *C. albicans* 601.

Результаты показали наличие противогрибкового эффекта холодной гелиевой плазмы при действии облучения на клетки *C. albicans*, нанесенные на поверхность агара методом «газонного» посева: после культивирования микромицетов были отчетливо видны зоны отсутствия роста грибов в местах, ранее обработанных плазмой. При этом увеличение времени воздействия холодной гелиевой плазмы на объект

приводило к увеличению площади зоны отсутствия роста (Рис. 1).

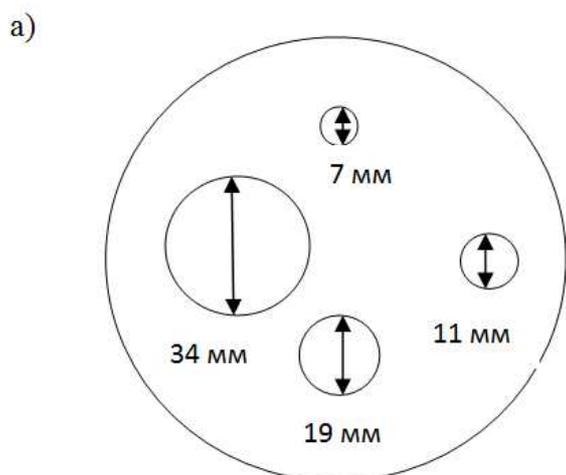


Рис. 1 (а). Подавление роста *C. albicans* 601, нанесенной на агар и вслед за этим обработанной холодной гелиевой плазмой. Время воздействия плазмы на объект по часовой стрелке: 30 с, 1 мин, 2 мин, 4 мин. Расстояние от источника плазмы – 2 см. (а) схема результата эксперимента с указанием диаметра зоны отсутствия роста *C. albicans*.

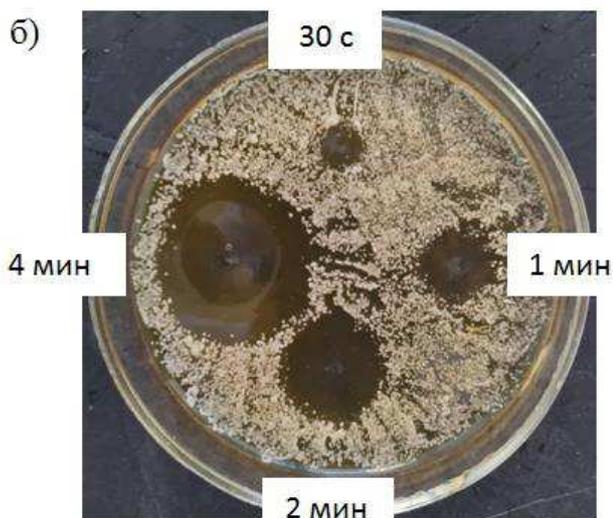


Рис. 1 (б). Результат эксперимента после инкубации (48 ч, 28 °С) тест-культуры.

Выявлена обратная зависимость выраженности антифунгального эффекта холодной гелиевой плазмы от расстояния между источником излучения и обрабатываемой поверхностью. Так, увеличение расстояния от источника плазмы с 2 до 5 см привело к существенному снижению диаметра зоны отсутствия роста при любом времени экспозиции излучения (от 30 с до 4 мин) (Рис. 2). Более того, при облучении объекта плазмой на расстоянии 5 см в течение 30 с, 1 мин и 2 мин эффект полностью отсутствовал, и только максимальное время экспозиции (4 мин) приводило к проявлению видимой (7 мм) зоны отсутствия роста *C. albicans* ( $p < 0,05$ ) (Рис. 2).

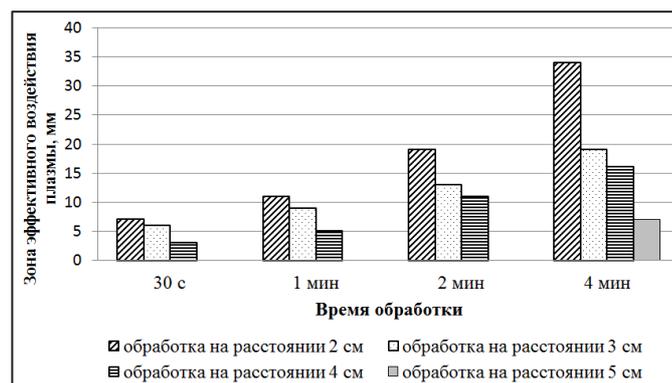


Рис. 2. Диаметр зоны отсутствия роста *C. albicans* 601 на агаре Сабуро в зависимости от времени и расстояния между источником плазмы и обрабатываемым объектом.

Для определения способности активных антифунгальных компонентов плазмы действовать и распространяться в водной среде исследовали фунгицидный эффект излучения при обработке разных объемов (0,2 мл и 2 мл) суспензии *C. albicans* штамм 601 в ЗФР (планктонная форма). Расстояние от источника излучения до поверхности жидкости во всех сериях эксперимента – 3 см. При обработке образцов суспензии клеток грибов в объеме 0,2 мл выявлено, что фунгицидные компоненты холодной гелиевой плазмы способны проникать и распространяться в жидкой среде. Выраженность антифунгального эффекта зависела от времени экспозиции плазмы на объект. Так, при воздействии холодной гелиевой плазмой на поверхность микробной суспензии в течение 30 с наблюдали снижение КОЕ *C. albicans* в суспензии в  $2,25 \pm 0,6$  раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем (суспензия клеток, обработанная потоком гелия), минутная обработка приводила к существенному снижению КОЕ в  $3,0 \pm 0,8$  раза ( $p < 0,05$ ), а 2 и 4-х минутная экспозиция – к полному уничтожению возбудителя ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Таблица 2

Выраженность фунгицидного эффекта холодной гелиевой плазмы при воздействии на суспензию клеток *C. albicans* 601 в зависимости от объема и времени обработки образца,  $M \pm m$

Объем суспензии клеток (10 <sup>4</sup> КОЕ/мл)	Количество выживших клеток после обработки экспериментального образца плазмой в процентах от контроля (100%)			
	Время обработки суспензии клеток			
	30 с	1 мин	2 мин	4 мин
0,2 мл	44,5±12,5*	33,4±9,6*	0*	0*
2,0 мл	62,5±21,8	52,6±12,4*	47,5±9,4*	0*

\* достоверность отличий относительно контроля (обработка потоком гелия),  $p < 0,05$

При десятикратном увеличении объема суспензии *C. albicans* до 2 мл отметили, что 30-и секундная обработка данного образца приводила к снижению численности живых микроорганизмов в  $1,6 \pm 0,6$  раза ( $p > 0,05$ ), что показывало меньший фунгицидный эффект по сравнению с экспериментами, где использовали объем 0,2 мл. Минутная и двухминутная обработки вызывали снижение численности микро-

мицетов в  $1,9 \pm 0,4$  и  $2,1 \pm 0,4$  соответственно ( $p < 0,05$ ), а полная (100%) гибель грибов в образце была достигнута только после 4-х минутной обработки ( $p < 0,05$ ). Таким образом, установлено, что фунгицидный эффект холодной гелиевой плазмы может уменьшаться пропорционально объему жидкости, содержащей взвешенные клетки *C. albicans* (табл. 2).

На следующем этапе провели сравнение чувствительности различных видов *Candida* spp. к воздействию холодной гелиевой плазмы. В экспериментах использовали режим излучения, вызывающий 50-ти процентную гибель клеток *C. albicans* 601: время обработки – 2 мин, расстояние от источника излучения – 3 см, концентрация суспензии –  $10^4$  КОЕ/мл. Выявлено, что плазма также оказывала выраженный фунгицидный эффект в отношении *C. krusei* (*P. kudriavzevii*) 583, *C. parapsilosis* 907 и *C. glabrata* 294 ( $p < 0,05$ ). Так, после облучения концентрация КОЕ *C. albicans* в среде снижалась в  $2,1 \pm 0,4$  раза, *C. krusei* (*P. kudriavzevii*) – в  $2,2 \pm 0,2$  раза, а *C. parapsilosis* и *C. glabrata* – в  $1,9 \pm 0,1$  раз. При этом не обнаружено достоверных различий по чувствительности к гелиевой плазме между *C. albicans* и другими исследуемыми видами микромицетов ( $p > 0,05$ ).

В то же время в результате экспериментов, проведенных с бактериями, выявили большую устойчивость *Candida* spp. к обработке холодной гелиевой плазмой по сравнению с *S. aureus* 86М и *E. coli* 210 (Рис. 3).

При сравнении антимикробного эффекта плазмы, действующей с расстояния 3 см на суспензию клеток различных микроорганизмов, взятых в одинаковых концентрации ( $10^4$  КОЕ/мл) и объеме (0,2 мл), отмечено полное уничтожение бактериальных клеток в суспензии после 30-и секундной обработки плазмой, тогда как для полной элиминации жизнеспособных *Candida* spp. потребовалось воздействие в течение 2 минут (Рис. 3). Различие в чувствительности к плазме между *Candida* spp. и прокариотами, как мы предполагаем, связано не только со спецификой строения клеточных стенок, но и с особенностями их метаболизма.

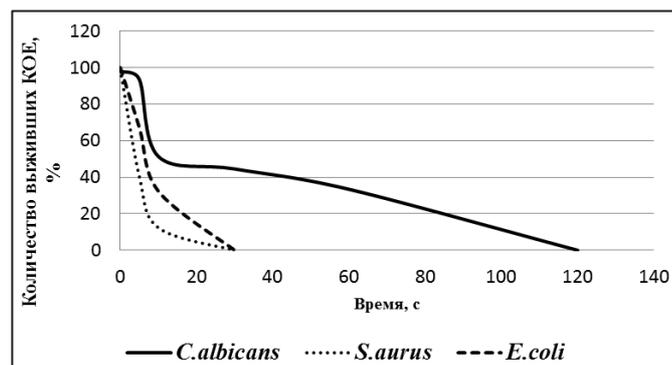


Рис. 3. Влияние холодной гелиевой плазмы на различные микроорганизмы.

Таким образом, холодная гелиевая плазма обладает антимикробным действием в отношении грибов рода *Candida*, однако, оно менее выражено, чем в отношении бактерий, включенных в исследование.

Приведенные экспериментальные данные свидетельствуют в пользу наличия у «холодной» гелиевой плазмы атмосферного давления в использованном режиме генерации и обработки тест-объектов противогрибкового эффекта.

## ВЫВОДЫ

1. «Холодная» гелиевая плазма атмосферного давления в использованном режиме генерации и обработки обладает фунгицидным эффектом в отношении грибов рода *Candida*.
2. Фунгицидный эффект гелиевой плазмы зависит от времени воздействия и снижается при увеличении расстояния до объекта.
3. Фунгицидный эффект сохраняется при пересечении плазменным потоком границы фаз «воздух-вода», но, в то же время, уменьшается пропорционально увеличению объема жидкости, в которой находятся клетки тест-штаммов.
4. Антимикробный эффект холодной гелиевой плазмы сходен по степени выраженности для разных видов *Candida* spp., но включенные в исследование бактерии обладают большей чувствительностью к этой субстанции.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Brown G.D., Denning D.W., Gow N.A., et al. Hidden killers: Human fungal infections. *Sci. Transl. Med.* 2012; 4 (4): 165rv13. doi:10.1126/scitranslmed.3004404.
2. Kim J.Y. Human fungal pathogens: Why should we learn? *J. Microbiol.* 2016; 54(3): 145-148. doi: 10.1007/s12275-016-0647-8.
3. Gow N.A.R., Yadav B. Microbe Profile: *Candida albicans*: a shape-changing, opportunistic pathogenic fungus of humans. *Microbiology.* 2017; 163 (8): 1145-1147. doi: 10.1099/mic.0.000499.
4. Мартусевич А.К., Краснова С.Ю., Костров А.В. Холодная плазма как биорегулятор: биофизические и физиологические аспекты. *Биорадикалы и антиоксиданты.* 2018; (3). [Martusevich A.K., Krasnova S.Yu., Kostrov A.V. Cold plasma as a bioregulator: biophysical and physiological aspects. *Bioradicals and antioxidants.* 2018; (3) (In Russ)].
5. VonWoedtke T., Schmidt A., Bekeschus S., et al. Plasma medicine: a field of applied redox biology. *In Vivo.* 2019; 33 (4): 011–1026. doi:10.21873/invivo.11570

6. *Heinlin J., Morfill G., Landthaler M., et al.* Plasma medicine: possible applications in dermatology. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft.* 2010; 8: 968-976. doi.org/10.1111/j.1610-0387.2010.07495.x
7. *Hoffmann C., Berganza C., Zhang J.* Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. *Medical Gas. Research.* 2013: 3-21. doi.org/10.1186/2045-9912-3-21
8. *Moniruzzaman R., Rehman M.U., Zhao Q.L.* Cold atmospheric helium plasma causes synergistic enhancement in cell death with hyperthermia and an additive enhancement with radiation. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 11659. doi:10.1038/s41598-017-11877-8
9. *Han L., Patil S., Boehm D., et al.* Mechanisms of inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma differ for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2015; 82 (2): 450-458. doi:10.1128/AEM.02660-15
10. *Семенов А.П., Балданов Б.Б., Ранжуров Ц.В. и др.* Инактивация микроорганизмов в холодной аргоновой плазме атмосферного давления. *Успехи прикладной физики.* 2014; 3 (2): 229-233. [Semenov A.P., Baldanov B.B., Ranzhurov Ts.V., et al. Inactivation of microorganisms in cold argon plasma of atmospheric pressure. *Advances in applied physics.* 2014; 3 (2): 229-233 (In Russ)].

*Поступила в редакцию журнала 09.04.2020*

*Рецензент: И.А. Рябинин*

## ХАРАКТЕРИСТИКА СЕРИНОВОЙ ПРОТЕАЗЫ *SYNCEPHALASTRUM RACEMOSUM* COHN, 1886

**Рябинин И.А. (м.н.с., ассистент кафедры)\*,  
Васильева Н.В. (директор НИИ, зав. кафедрой),  
Борзова Ю.В. (доцент, зав. клиникой)**

Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, кафедра медицинской микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

Представлены данные биоинформационного исследования одного из протеолитических ферментов сравнительно редкого возбудителя мукомикоза – *Syncephalastrum racemosum*. Секретируемые протеазы являются одними из важнейших факторов вирулентности, опосредствующих инвазивный рост возбудителей глубоких микозов в тканях восприимчивого хозяина. С другой стороны, эти же белки можно рассматривать как (1) потенциальные антигенные маркеры для экспресс-обнаружения возбудителя, а также в качестве (2) вероятных молекулярных мишеней для разработки новых средств патогенетической терапии микозов. Современные средства биоинформатики позволяют произвести достаточно подробную ревизию свойств таких метаболитов. Авторами реконструирована вторичная и третичная структура фермента, освещены ее сходства с другими гомологичными (кодируемыми родственными генами) и аналогичными (не родственными, но структурно и функционально сходными) белками. Реконструированы связи сериновой протеазы с вероятными лигандами, а также физико-химические свойства этого фермента, наблюдаемые исследователем при его выделении из клетки и изучении различными методами, в том числе – с помощью масс-спектрометрии.

**Ключевые слова:** биоинформатика, мукоморизеты, сериновая протеаза, патогенез микозов, структурная протеомика, *Syncephalastrum racemosum*

## CHARACTERISTICS OF SERINE PROTEINASE FROM *SYNCEPHALAS- TRUM RACEMOSUM* COHN, 1886

**Ryabinin I.A. (junior scientific collaborator, assistant of the department), Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department), Borzova Y.V. (associate professor, head of the clinic)**

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; Kashkin Research Institute of Medical Mycology and Department of Medical Microbiology, St. Petersburg, Russia

\* Контактное лицо: Рябинин Игорь Андреевич,  
e-mail: Igor.Ryabinin@szgmu.ru

*Results of bioinformatic study of one of the proteolytic enzymes from relatively rare pathogen of mucromycosis – *Syncephalastrum racemosum* have been presented. Secreted proteases are one of the most important virulence factors that mediate the invasive growth of pathogens of deep mycoses in tissues of susceptible human host. On the other hand, these proteins can be considered as (1) potential antigenic markers for rapid detection of the mycotic pathogen, as well as (2) probable molecular targets for the development of new pathogenetic therapy for mycoses. Modern bioinformatics instruments allow a fairly detailed revision of the properties of such metabolites. The authors reconstructed the secondary and tertiary structure of the enzyme of interest, highlighted its similarities with other homologous (encoded by related genes) and analogous (not related, but structurally and functionally similar) proteins. The linkages of the serine protease with probable ligands were also reconstructed, as well as the physicochemical properties of this enzyme, which could be observed by the researcher when isolated from the cell and studied by various methods, including mass-spectrometry.*

**Key words:** bioinformatics, mucoromycetes, pathogenesis of mycoses, serine protease, structural proteomics, *Syncephalastrum racemosum*

### ВВЕДЕНИЕ

Мукоморизы – группа нозологий, включающая наиболее тяжелые инвазивные оппортунистические микозы. По данным международного проекта «LIFE» (Leading International Fungal Education, <http://www.life-worldwide.org/>), ежегодно регистрируют около 5000 случаев мукоморизов, но реальная заболеваемость существенно выше, по ориентировочной оценке – ≈35000 случаев в год. Летальность при мукоморизах велика, хотя ее оценивают в очень широких пределах. Так, по сообщению Prakash H. и Chakrabarti A., она может варьировать от 22% до 82% [1]. На выживаемость пациентов влияет множество факторов: фоновое заболевание и его «ответ» на терапию, локализация микотического поражения, своевременность диагностики, вид возбудителя и особенности антимикотической чувствительности штамма, а также применяемые противогрибковые препараты. Несмотря на активную разработку новых антимикотиков, терапевтических препаратов, эффективных в отношении возбудителей мукоморизов, все еще крайне мало, они дорогостоящи, доступны не во всех регионах мира, у некоторых возбудителей к ним есть природная (первичная) устойчивость.

Одним из возможных решений является создание новых противогрибковых агентов не эвристическим способом, а путем тонкого подбора низкомолекулярного ингибитора к белку-мишени с предварительным прогнозированием их взаимодействия. В этом пути задействованы технологии биоинформатики (в частности – структурной протеомики), хемоинформатики, а также «молекулярного докинга», применяемые *in silico*. Данное направление уже раз-

вивается несколькими научными коллективами [2-5], благодаря чему появились новые перспективные субстанции – арилгалогензамещенные производные пропеновой кислоты, макроциклические амидионураты, аналоги тиохроман-4-она, соединения класса триазольных антимикотиков и другие. Краеугольный камень этой стратегии – детальный анализ структурных особенностей макромолекулярной мишени клеток хозяина.

Среди факторов патогенности возбудителей инвазивных микозов особое место занимают протеолитические ферменты, которые осуществляют деградацию элементов естественных анатомических барьеров тела, а также обеспечивают для микромицета органическое азотистое питание. Роль протеаз достоверно доказана в патогенезе инвазивного кандидоза, аспергиллеза, мукормикозов, особо опасных эндемичных микозов [6-9]. Ингибиторы грибковых протеаз, если такие будут созданы, можно рассматривать в качестве потенциального класса средств патогенетической терапии инвазивных микозов, служащих в качестве дополнения классических антимикотиков. Для их разработки необходимо тщательное исследование строения конкретных протеолитических ферментов, что в идеальном случае выполняют с помощью химических и физико-химических методов, включая рентгеноструктурный анализ. Однако современные приемы биоинформатики до некоторой степени позволяют «предвосхитить» их результаты, что положено в основу данной работы.

**Цель** – охарактеризовать сериновую протеазу *S. racemosum* на основании данных ее первичной последовательности по комплексу структурных и физико-химических признаков.

## МАТЕРИАЛЫ МЕТОДЫ

Для поиска сериновой протеазы *S. racemosum* в ресурсе «protein BLAST» использовали последовательность такого же фермента типа эластазы у *Aspergillus fumigatus* № AAB07672.1 (GenBank), полученную сотрудниками Государственного университета Огайо [Kolattukudy P.E., et al. Infect. Immun. 1993; 6 (6)]. Выявление в последовательности доменов и фрагментов, общих для семейств и суперсемейств белков, провели в ресурсе NCBI Conserved Domains.

Элементарный и аминокислотный состав фермента, его физико-химические свойства, включая поведение ферментативного перевара при MALDI-TOF-масс-спектрометрии, рассчитали с помощью редактора Protein Calculator v3.4. Подверженность исследуемого белка протеолизу при использовании различных ферментов установили благодаря on-line редактору «Peptide Cutter» на платформе ExPASy. Конструирование вторичной и третичной структуры белка провели в сервисе Swiss-Model [10], а также

биоинформационных баз данных Swiss-Model Template Library и PDBsum. Визуализацию точных данных третичной и четвертичной структуры белков – аналогов осуществили благодаря редакторам MOLE online 2.0 и системе представления 3Dmol.js. Для уточнения особенностей взаимодействия с лигандами применяли редактор «PLIP» (Protein-Ligand Interaction Profiler).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Найденная последовательность и наличие гомологов среди мукоромицетов.** Сериновая протеаза *S. racemosum* по отношению к «поисковой» последовательности гомологичного фермента из *A. fumigatus* совпадает с нею на 42,39%; перекрывается на 93%, их сходство характеризует величина «Е-уровня» 8e-97. Найденная первичная последовательность фермента под № ORY92299.1, включающая 421 аминокислотный остаток, получена Mondo S.J. и соавторами в 2016 г. (прямое депонирование без опубликования). Гомологичные ферменты имеются у представителей *Lichtheimia corymbifera*, *L. ramosa*, *Absidia repens*, *A. glauca*, *Actinomucor elegans*, *Phycomyces blakesleeanus*, *Mucor circinelloides*, *M. ambiguus*, *M. racemosus*, *Choanephora cucurbitarum*, *Rhizopus microsporus*, *R. azygosporus*, *R. stolonifer*, *R. delemar* (*R. oryzae*), *Parasitella parasitica* и *Hesseltinella vesiculosa*. Интересно, что среди обладателей сериновых протеаз существуют как медицински значимые, так и апатогенные виды мукоромицетов.

**Состав последовательности и физико-химические свойства.** Первичная структура фермента включает 47 остатков аланина, 16 – аргинина, 25 – аспарагина, 27 – аспартата, 8 – глутамина, 20 – глутамата, 36 – глицина, 14 – гистидина, 26 – изолейцина, 26 – лейцина, 24 – лизина, 6 – метионина, 14 – фенилаланина, 18 – пролина, 36 – серина, 19 – треонина, 16 – тирозина, 32 – валина, 7 – триптофана, 4 – цистеина. Остатков селеноцистеина в структуре нет. Молекула фермента описана брутто-формулой  $C_{2020}N_{561}O_{620}S_{10}H_{3125}$ , ей соответствует среднеизотопная молекулярная масса 45481,6758 Da. Ожидаемая изоэлектрическая точка фермента составила  $pI=6,53$ ; коэффициент молярной экстинкции, рассчитанный по методу Джилла - фон Гиппеля, при длине волны 278 нм и сохранности тиольных групп –  $61600 M^{-1} \cdot cm^{-1}$ , при формировании дисульфидных связей –  $61854 M^{-1} \cdot cm^{-1}$ .

**Консервативные домены в структуре последовательности.** Протеаза *S. racemosum* принадлежит к семейству пептидаз S8 (субтилаз), называемых также «протеиназа-К-подобные белки». Все они имеют в активном центре каталитическую «триаду» остатков, включающую аспартат, гистидин и серин, этим они похожи на трипсин-подобные протеазы. Серин действует как нуклеофильный агент, аспартат – как электрофил, гистидин – как органическое ос-

нование. В этом семействе присутствуют  $Ca^{+2}$ -зависимые белки, возможно существование до 4 (чаще) центров связывания кальция. Субтилазы способны гидролизовать кератин, что объясняет возникновение нескольких случаев онихомикоза, вызванного *S. racemosum* [11-14]. Эти ферменты в структуре имеют  $\beta$ -лист из 7 параллельных тяжей (Рис. 1.G). Анализируемая последовательность сходна с доменом «Т7SS-микозин», который характерен для бактериальных сериновых протеаз, специфичных для актинобактерий, и закономерно подвергающихся секреции из клетки. Один из фрагментов анализируемого фермента несет домен ингибиторов протеаз суперсемейства I9 – это концевые последовательности, которые в первоначальном ферменте способствуют формированию нормальной третичной структуры, но при этом ингибирует каталитическую активность протеазы (гомологи ингибитора пептидазы В у *Saccharomyces cerevisiae*). Для активации протеазы необходимо отщепление этого пептида.

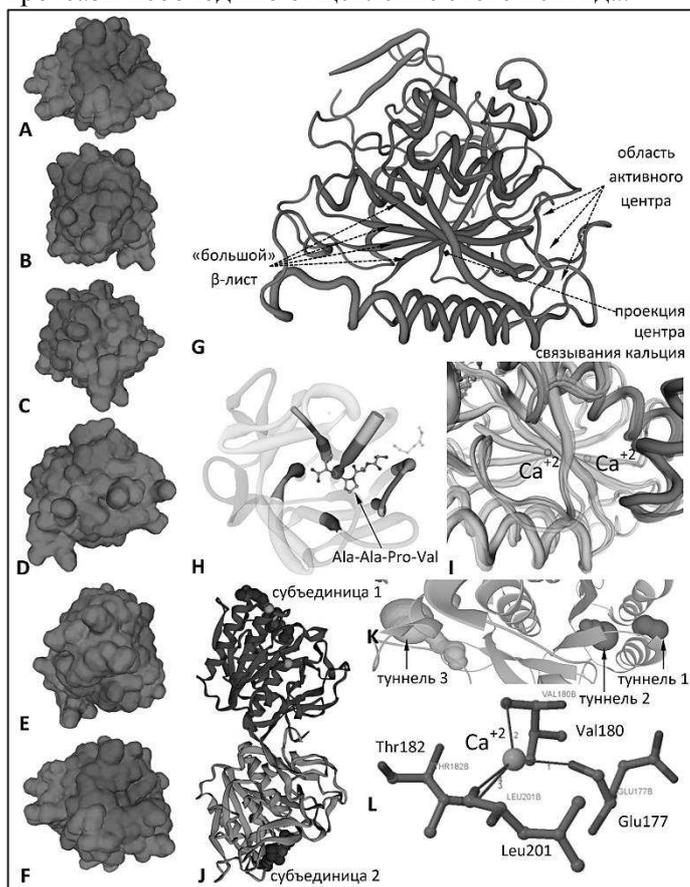


Рис. 1. Реконструированная третичная структура сериновой протеазы *S. racemosum* и структурные особенности сходных с ней белков (объяснение в тексте).

**Подверженность действию различных протеолитических агентов.** В зависимости от специфичности протеаз они проявляли различную активность в отношении изучаемого белка. Наибольшее число фрагментов – 207, как следовало ожидать, гипотетически можно получить при обработке белка протеиназой К (хорошо известная сериновая проте-

аза *Tritirachium album*). Также высокую активность здесь проявляют термолизин из *Geobacillus stearothermophilus* (129 сайтов), химотрипсин (36-79 сайтов в зависимости от типа препарата), пепсин (57-91 сайт в зависимости от pH), пептидил-аспартил-металлоэндопептидаза из *Pseudomonas fragi* (27-47 сайтов). Умеренно активны: стафилококковая пептидаза I (19 сайтов), глутамил-эндопептидаза (20 сайтов, сходные ферменты есть у *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces griseus* и *Bacillus licheniformis*), клостридиоэндопептидаза В (клострипаин) из *Clostridium histolyticum* (16 сайтов), лизил-эндопептидаза из *Achromobacter lyticus* и пептидил-лизил-металлоэндопептидаза из *Armillaria mellea* (по 24 сайта). Слабая активность характерна для протеазы-фактора свертывания Ха (1 сайт). Каспазы на протеазу *S. racemosum*, в основном, не действуют, лишь каспаза I имеет единственный сайт расщепления. Также неспособны расщеплять этот белок энтерокиназа, гранзим В, пролин-эндопептидаза, тромбин и протеаза вируса «ожога» табака.

Расщепление, катализируемое низкомолекулярными агентами, при обработке сериновой протеазы *S. racemosum* происходит следующим образом: муравьиная кислота – 27 сайтов расщепления; 2-нитро-5-тиоцианобензойная кислота – 4 сайта; йодозобензойная кислота – 7 сайтов; бромциан – 6 сайтов; 3-бromo-3-метил-2-((2-нитрофенил)тио)-3Н-индол – 7 сайтов; гидроксилламин – 2 сайта.

**Особенности поведения протеолитического перевара изучаемого фермента при линейной MALDI-TOF-масс-спектрометрии.** В диапазоне 2-15 kDa, где получается наиболее отчетливая съемка при использовании в качестве матрицы  $\alpha$ -циано-4-гидроксициннамовой кислоты в растворителе «ТА30», расчетным путем определили набор фрагментов от протеолиза, участвующих в формировании масс-спектра. Для упрощения исключили возможность калькуляции ионов разного изотопного состава, который более существенен для тандемной MALDI-TOF-MS, чем для линейной. Так, в результате действия трипсина в формировании MALDI-масс-спектра принимают участие до 424 фрагментов, при действии химотрипсина – до 323, при действии стафилококковой протеазы V8 – до 564.

**Реконструкция третичной структуры фермента.** На этапе подбора белков – кристаллографических «шаблонов» для построения третичной структуры анализировали выборку из 50 сходных ферментов. Они оказались представлены моделями других сериновых протеаз того же семейства, по несколько моделей для каждого полипептида (для краткости приведено по одному номеру модели):

- белковая конвертаза субтилизин-кексин-подобная, типа 9, связанная с апоптозом, человеческая (например, № 5v1a.1);
- протеаза *Purpureocillium lilacinum* (№ 3f7o.1);

- аквализин 1 – протеаза *Thermus aquaticus* (№ 4dzt.1);
- субтилизин-подобная протеаза *Thermococcus kodakaraensis* (№ 3afg.2);
- субтилизин-подобная протеаза *Penicillium aurantiogriseum* (№ 5z6o.1) [Koszelak S., et al. Biochemistry];
- протеиназа К *Tritirachium album* (№ 1pek.1);
- кератиназа *Meiothermus taiwanensis* (№ 5wsl.1);
- фервидолизин – кератиназа *Fervidobacterium pennivorans* (№ 1r6v.1);
- щелочная сериновая протеаза *Verticillium (Lecanicillium) psalliotae* (№ 3f7m.1);
- эпидермин-ферментирующая протеаза EpiP из *Staphylococcus aureus* (№ 3qfh.5);
- препротеин-конвертаза субтилизин/кексин-подобная типа 9, человеческая (№ 2p4e.2).

В дальнейшем анализе, в силу наличия естественных эволюционных и таксономических связей, рассмотрели протеазы грибов (№№ 3f7o.1, 5z6o.1, 1pek.1 и 3f7m.1). Все эти белки, вероятнее всего, являются мономерными (четвертичная структура отсутствует). При наложении (суперпозиции) их кристаллографических моделей они оказываются почти идентичными. Однако все четыре белка-«шаблона» по последовательностям при выравнивании перекрывают изучаемую протеазу не на всем протяжении: N-концевой сегмент на протяжении остатков 1-124 в сериновой протеазе *S. racemosum* не имеет отражения в структуре других грибковых протеаз, включенных в анализ. Это можно объяснить тем, что модельные протеазы принадлежат аскомицетам, а исследуемая – более отдаленному по родству микроорганизму из группы мукоромицетов. При моделировании получили хорошие показатели качества построения, например, при наложении на структуру сериновой протеазы *Purpureocillium lilacinum* они составили QMEAN<sub>4</sub>=-3,39, GMQE=0,54. QMEAN<sub>4</sub> (безразмерная величина) – комплексный индикатор точности реконструкции, основанный на расчётом вероятном сходстве «геометрии» молекулы анализируемого белка и белка-«шаблона» по следующим критериям: (1) конфигурация углеродных атомов полипептидной цепи в положении β («Сβ»); (2) конфигурация всех углеродных атомов в полипептидной цепи; (3) особенности торсионных углов; (4) особенности сольватации (доступности аминокислотных остатков для растворителей). К рассмотрению обычно принимают модели с показателем более -4. GMQE (безразмерная величина) отображает не только вероятное «геометрическое» сходство изучаемого белка и белка-«модели», но и эффективность поискового подбора данного белка-«модели», а также сходство их первичных последовательностей (перекрытие). Выражается от 0 до 1 (наивысшее значение). О реальных структурных свойствах изучаемого

фермента можно судить по структурным свойствам белков-«шаблонов».

Вторичная структура 4-х избранных для моделирования ферментов довольно сходна; по-видимому, рассматриваемая здесь группа сериновых протеаз отличается высоко консервативным строением. Вторичная структура включает 5 β-листов, 1 участок взаимодействия типа «β-α-β», 3 β-«шпильки», 15 β-тяжей; небольшие вариации имеются в количестве β-«выступов» (1-2), α-спиралей (8-10), участков межспирального взаимодействия (4-8), β-поворотов (25-29) и дисульфидных связей (1-2).

Результаты реконструкции третичной структуры сериновой протеазы *S. racemosum* на основании наложения на структуру протеазы *P. lilacinum* приведены на рисунке 1: А-F – вид поверхности глобулы фермента в различных проекциях при вращении вокруг сагиттальной оси; G – общий вид глобулы фермента (трубчатая диаграмма) с важнейшими элементами.

Структурная реконструкция молекулы фермента *in silico* не позволяет проводить достаточно точных измерений геометрии отдельных областей глобулы исследуемого фермента, поэтому такой анализ доступен только для белков-«шаблонов». В частности, у сходной протеазы *Verticillium psalliotae*, исследованной Liang L., et al. [FASEB Journal. 2010; 24 (5)], объем глобулы составляет 18609 Å<sup>3</sup>, в ферменте 8 полостей объемами от 123 Å<sup>3</sup> до 855 Å<sup>3</sup>, а также 8 «пустот» объемами от 61 Å<sup>3</sup> до 208 Å<sup>3</sup>. Также в глобуле удалось определить наличие 3 каналов, все они связаны, преимущественно, с внешней частью глобулы. Один из туннелей расположен между 2-мя α-спиралями, его внутренняя поверхность из аминокислотных остатков сравнительно слабо ионизируемая, умеренно гидрофильна (средний индекс гидрофильности Кита-Дулиттла [СИГ] -0,38; протяженность – всего около 7 Å, наименьший радиус – 1,1 Å). Рядом с ним расположен более крупный туннель протяженностью 14,2 Å, наименьший радиус – 1,2 Å), его просвет гидрофобный (СИГ – 2,11), наиболее дистальная часть канала завершается у большого β-листа. На противоположной стороне глобулы находится наиболее протяженный (14,8 Å) туннель, его внутренний просвет преимущественно гидрофильный (СИГ – 1,41), но свободный радиус наиболее узкий – всего 1 Å. Как ни странно, найденные каналы напрямую не связаны с предполагаемым активным центром фермента, но второй из описанных своим внешним устьем расположен довольно близко к сайту связывания вероятных субстратов (Рис. 1. К – «туннели» глобулы, выявленные на модели протеазы *V. psalliotae*).

Для ферментов данной группы (сериновых протеаз микромицетов) существует вероятность наличия четвертичной структуры: протеаза *P. lilacinum*, по данным авторов анализа оригинального белка, представляет собой гомодимер (Рис. 1.Ж – возможная четвертичная структура фермента на модели протеазы *P. lilacinum*). Оригинальное исследование также провели Liang L. и соавторы [FASEB Journal, 2010]. Площадь контакта двух идентичных субъединиц составляет  $182 \text{ \AA}^2$ ; взаимодействие происходит следующим образом: симметрично координируются друг с другом одноименные остатки глутаминовой кислоты в положении 244 (Glu244) и аргинина – в положении 255 (Arg255), также остатки лейцина обеих субъединиц в положении 243 (Leu243) связываются с остатками глутаминовой кислоты Glu244 противоположной стороны. Такой контакт двух белковых глобул не отличается устойчивостью, и, по-видимому, димеры протеаз формируются только временно (неясно – спонтанный ли это процесс либо связан с выполнением особой функции в клетке или вне ее). На периферии глобулы этой протеазы, по третичной структуре похожей на фермент из *V. psalliotae*, найдены еще 4 новых канала (туннеля) протяженностью от 6 до  $12 \text{ \AA}$ , радиусом  $1,1-1,3 \text{ \AA}$ , сравнительно гидрофобные. За счет формирования четвертичной структуры между молекулами 2-субъединиц формируется еще 3 дополнительных канала.

**Определение возможных лигандов сериновой протеазы.** Естественным субстратом белков данного класса являются различные полипептиды. На моделях протеиназы К (с использованием данных Betzel С. и соавторов [J. Biol. Chem. 1993; 268 (21)]) и сериновой протеазы *P. lilacinum* ранее были выявлены центры, связывающие пептиды из остатков L-типа аланил-аланил-пролил-валин и пролил-аланил-пролил-фенилаланин, а также D-аланил-L-аланин (Рис. 1.Н – активный центр фермента (выделен ярче) и расщепляемый субстрат – тетрапептид, «веревочная» диаграмма). Используемые при моделировании белки имеют по 1 центру, удерживающему ион  $\text{Ca}^{+2}$ , положение которого у разных ферментов несколько отличается (Рис. 1.И – два альтернативных центра связывания ионов кальция; Рис. 1.Л – центр связывания ионов  $\text{Ca}^{+2}$  протеазы *V. psalliotae*). Также выявили сайты связывания фенилметансульфоновой и (4S)-4-гидрокси-4-метоксимасляной кислот, но взаимодействие с такими лигандами имеет, вероятнее всего, искусственный характер.

## ВЫВОДЫ

В результате проведенного исследования составлена подробная характеристика сериновой протеазы *S. racemosum*, важнейшие обобщения которой можно отразить следующими выводами:

1. Сериновая протеаза *S. racemosum* относится к группе субтилаз – протеаз типа S8, несущих в первоначальной структуре отщепляемый концевой фрагмент – временный пептид – ингибитор.

2. Сериновые (субтилизин-подобные) протеазы – ферменты, с наибольшей вероятностью участвующие в разнообразных физиологических процессах представителей подотдела *Mucoromycotina*, что подтверждено обнаружением гомологов сериновой протеазы *S. racemosum* как среди условно-патогенных, так и сапрофитических мукоромицетов.

3. Протеаза *S. racemosum*, как и большинство представителей своего класса, является кальций-зависимым белком, хотя для центра связывания кальция у нее предполагаем не менее 2-х альтернативных позиций.

4. Особенности группы ферментов, к которой принадлежит протеаза *S. racemosum*, определяет ее потенциальную кератинолитическую активность, что также подтверждено выявлениями случаев онихомикоза, вызванного *S. racemosum*.

5. Изученный белок подвержен действию многих протеолитических ферментов микробного происхождения, что указывает на необходимость тщательной проверки чистоты культуры *S. racemosum* при анализе вирулентности его штаммов по выраженности протеолитического действия.

6. Среди микромицетов кристаллографические модели сериновых протеаз, близких исследуемому белку, до сих пор получены только для ферментов представителей *Ascomycota*.

7. В соответствии с особенностями вторичной и третичной структуры сериновые протеазы микромицетов являются высоко консервативной группой белков, что позволяет предсказать широкий спектр активности возможных синтетических ингибиторов таких ферментов.

8. С учетом результатов исследований молекулярной геометрии структурно сходных белков у сериновой протеазы *S. racemosum* можно предполагать до 7 «туннелей» глобулы в мономерной форме.

9. Поскольку туннели фермента прямо не связаны с его активным центром, вероятно, они служат для взаимодействия протеазы *S. racemosum* с некоторыми низкомолекулярными (сигнальными, регуляторными) метаболитами гриба-производителя или участников микробных сообществ.

10. Охарактеризованный фермент имеет способность к нестойкой димеризации, что, гипотетически, связано с участием в деградации крупных тяжелых мультибелковых структур (коллагеновых или эластиновых волокон и др.).

*Работа выполнена в рамках Государственного задания Минздрава России «Морфо-биологические особенности патогенных мукоромицетов – возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитами».*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Prakash H., Chakrabarti A. Global Epidemiology of Mucormycosis. *Journal of Fungi*. 2019, 5: 26. doi:10.3390/jof5010026
2. Khedr M. Stepwise design, synthesis, and in vitro antifungal screening of (Z)-substituted-propenoic acid derivatives with potent broad-spectrum antifungal activity. *Drug Des. Devel. Ther.* 2015; 9: 4501-4513. doi: 10.2147/DDDT.S84178
3. Maccari G., Deodato D., Fiorucci D., et al. Design and synthesis of a novel inhibitor of *T. viride* chitinase through an in silico target fishing protocol. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2017; 27 (15): 3332-3336. doi: 10.1016/j.bmcl.20s17.06.016.
4. Kankatea R.S., Gidea P.S., Belsareb D.P. Design, synthesis and antifungal evaluation of novel benzimidazole tertiary amine type of fluconazole analogues. *Arabian Journal of Chemistry*. 2019; 12 (8): 2224-2235.
5. Zhong Y., Han X., Li S., et al. Design, synthesis, antifungal activity and molecular docking of thiochroman-4-one derivatives. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2017; 65 (10): 904-910. doi: 10.1248 / cpb.c17-00274.
6. do Rosário Esteves Guimarães C., de Freitas H.F., Barros T.F. Upregulation of secreted aspartyl proteinase genes of fluconazole-sensitive *Candida albicans* isolates. *Mol. Biol. Rep.* 2019; 46 (6): 6147-6154. doi: 10.1007/s11033-019-05049-2.
7. Shende R., Wong S.S.W., Rapole S., et al. *Aspergillus fumigatus* conidial metalloprotease Mep1p cleaves host complement proteins. *J. Biol. Chem.* 2018; 293 (40): 15538-15555. doi: 10.1074/jbc.RA117.001476.
8. Hassan M.I.A., Voigt K. Pathogenicity patterns of mucormycosis: epidemiology, interaction with immune cells and virulence factors. *Med. Mycol.* 2019; 57 (2): S245-S256. doi: 10.1093/mmy/myz011.
9. McBride J.A., Gauthier G.M., Klein B.S. Turning on virulence: Mechanisms that underpin the morphologic transition and pathogenicity of *Blastomyces*. *Virulence*. 2019; 10 (1): 801-809. doi: 10.1080/21505594.2018.1449506.
10. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46 (W1): W296-W303. doi: 10.1093/nar/gky427
11. Jindal N., Kalra N., Arora S., et al. Onychomycosis of toenails caused by *Syncephalastrum racemosum*: A rare non-dermatophyte mould. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2016; 34 (2): 257-258. doi: 10.4103 / 0255-0857. 176844
12. Mohanty P., Dash S., Mohapatra L., Jain M. Total dystrophic onychomycosis due to *Syncephalastrum racemosum* – A rare cause and its novel treatment option. *Indian Dermatology Online Journal*. 2019; 10 (2): 171-173. doi: 10.4103 / idoj.IDOJ\_155\_18
13. Baby S., Ramya T.G., Geetha R.K. Onychomycosis by *Syncephalastrum racemosum*: case report from Kerala, India. *Dermatol Reports*. 2015; 7 (1): 5527. doi: 10.4081/dr.2017.5527
14. Pavlović M.D., Bulajić N. Great toenail onychomycosis caused by *Syncephalastrum racemosum*. *Dermatol. Online J.* 2006; 12(1): 7. PMID: 16638375

Поступила в редакцию журнала 29.03.2020

Рецензент: Т.С. Богомолова