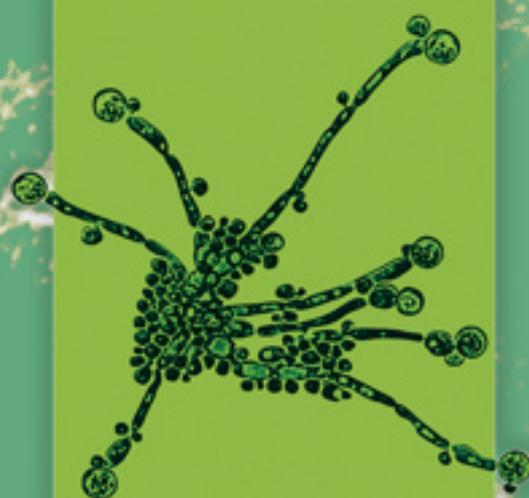


ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 25 №3



Problems in medical mycology

Vol.25 №3

2023

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), Raznatovsky K.I. — 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. 25, № 3, 2023

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, иммунология, терапия и профилактика инфекций, микроорганизмы-контаминанты в лабораторных, клинических и других условиях.

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 25, № 3, 2023

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)

Заведующая 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.м.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), Разнатовский К.И. — 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), Шулгина 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, immunology, therapy and prophylaxis of infections, microorganisms — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

<i>Кафтырева Л.А., Макарова М.А., Матвеева З.Н., Полев Д.Е., Саитова А.Т., Жамборова М.Х., Смирнова М.В., Мельцер А.А., Кондратьева З.Г., Дедков В.Г.</i> Первые находки монофазной <i>Salmonella Typhimurium</i> в Санкт-Петербурге.....	3
<i>Карнаухова М.Т., Корнишева В.Г., Фролова Е.В.</i> Псориаз и патология сердечно-сосудистой системы (обзор литературы).....	10

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Шевяков М.А., Тен М., Фролова Е.В., Митрофанов В.С., Берест Д.Г.</i> Кандидоз пищевода у пациента с язвенным колитом на фоне иммунной дисфункции, ассоциированной с лечением озанимодом (клиническое наблюдение).....	14
<i>Хостелиди С.Н., Козлова О.П., Исмаилова С.С., Костылев А.А., Силков В.Б., Шурпицкая О.А., Игнатьева С.М., Тараскина А.Е., Борзова Ю.В., Васильева Н.В.</i> Тяжелые грибковые инфекции, обусловленные <i>Paecilomyces</i> spp. (описание клинического случая и обзор литературы).....	20
<i>Фролова Е.В., Шадривова О.В., Хостелиди С.Н., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Богомолова Т.С., Игнатьева С.М., Соловьева Г.И., Аак О.В., Десятник Е.А., Тен М., Борзова Ю.В., Тараскина А.Е., Васильева Н.В.</i> Прогностическое значение показателей субпопуляционного состава лимфоцитов крови гематологических пациентов с инвазивным аспергиллезом легких, получающих полихимиотерапию.....	27

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

<i>Прокопьев В.В., Руденко А.В., Сафьянова Т.В., Емельянова И.В., Звездкина Г.С.</i> Адгезивная активность аскомицетных и базидиомицетных дрожжей микобиома кишечника.....	37
<i>Шипко Е.С., Дуванова О.В., Писанов Р.В., Кругликов В.Д., Квасов А.Р., Носков А.К.</i> Влияние поллютантов на спектр жирных кислот <i>Vibrio cholerae</i>	42

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

<i>Kafytyreva L.A., Makarova M.A., Matveeva Z.N., Polev D.E., Saitova A.T., Zhamborova M.H., Smirnova M.V., Meltzer A.A., Kondratieva Z.G., Dedkov V.G.</i> The first findings of monophasic <i>Salmonella Typhimurium</i> in St. Petersburg.....	3
<i>Karnaukhova M.T., Kornisheva V.G., Frolova E.V.</i> Psoriasis and pathology of the cardiovascular system (literature review).....	10

CLINICAL MYCOLOGY

<i>Shevyakov M.A., Ten M., Frolova E.V., Mitrofanov V.S., Berest D.G.</i> Esophageal candidiasis in a patient with ulcerative colitis on the background of immune dysfunction associated with ozanimod treatment (clinical observation).....	14
<i>Khostelidi S.N., Kozlova O.P., Ismailova S.S., Kostylev A.A., Silkov V.B., Shurpitskaya O.A., Ignatieva C.M., Taraskina A.E., Borzova Yu.V., Vasileva N.V.</i> Severe fungal infections caused by <i>Paecilomyces</i> spp. (clinical case description and literature review).....	20
<i>Frolova E.V., Shadrivova O.V., Khostelidi S.N., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Bogomolova T.S., Ignatieva S.M., Solovyova G.I., Aak O.V., Desyatnik E.A., Ten M., Borzova Yu.V., Taraskina A.E., Vasilyeva N.V.</i> Prognostic value of indicators of the subpopulation composition of blood lymphocytes of hematological patients with invasive pulmonary aspergillosis receiving polychemotherapy.....	27

EXPERIMENTAL MICROBIOLOGY

<i>Prokopiev V.V., Rudenko A.V., Safyanova T.V., Emelyanova I.V., Zvezdkina G.S.</i> Adhesive activity of ascomycete and basidiomycete yeasts of the intestinal mycobiome	37
<i>Shipko E.S., Duvanova O.V., Pisanov R.V., Kruglikov V.D., Kvasov A.R., Noskov A.K.</i> Effect of pollutants on the spectrum of fatty acids of <i>Vibrio cholerae</i>	42



Для цитирования: Кафтырева Л.А., Макарова М.А., Матвеева З.Н., Полев Д.Е., Сaitова А.Т., Жамборова М.Х., Смирнова М.В., Мельцер А.А., Кондратьева З.Г., Дедков В.Г. Первые находки монофазной *Salmonella* Typhimurium в Санкт-Петербурге. 2023; 25 (3): 3-9. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-3-9

For citation: Kaftyreva L.A., Makarova M.A., Matveeva Z.N., Plev D.E., Saitova A.T., Zhamborova M.H., Smirnova M.V., Meltzer A.A., Kondratieva Z.G., Dedkov V.G. The first findings of monophasic *Salmonella* Typhimurium in St. Petersburg. 2023; 25 (3): 3-9. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-3-9

ПЕРВЫЕ НАХОДКИ МОНОФАЗНОЙ *SALMONELLA* TYPHIMURIUM В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

^{1,2}Кафтырева Л.А. (в.н.с., профессор кафедры)*, ^{1,2}Макарова М.А. (в.н.с., доцент), ¹Матвеева З.Н. (в.н.с.), ¹Полев Д.Е. (с.н.с.), ¹Сaitова А.Т. (лаборант-исследователь), ²Жамборова М.Х. (врач-бактериолог), ³Смирнова М.В. (врач-бактериолог), ³Мельцер А.А. (врач-бактериолог), ⁴Кондратьева З.Г. (врач-бактериолог), ¹Дедков В.Г. (зам. директора по научной работе)

¹Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера; ²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ³Городская Мариинская больница; ⁴Клиническая инфекционная больница С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

Представлена характеристика генов *mdsA* и *mdsB* четырех штаммов монофазной *Salmonella enterica* серовар *Typhimurium* (1,4,5,12:i:-), выделенных в Санкт-Петербурге. По результатам полногеномного секвенирования были собраны черновые версии геномов до уровня контигов и проведен их анализ (доступны в базе данных NCBI BioProject PRJNA995512). Штаммы относились к 34 ST, имели гены эффлюкса *mdsA* и *mdsB* и разные сочетания генов резистентности к аминогликозидам, пеницилинам, сульфаниламидам и тетрациклину. Геномы всех штаммов содержали опероны, отвечающие за устойчивость к металлам и металлоидам (ртуть, мышьяк, серебро, медь, золото). Филогенетический анализ позволил отнести Российские «монофазные» штаммы к серологическому варианту *S. Typhimurium* и показал их родство с большой кладой монофазных вариантов *S. Typhimurium*, выделенных в 2004-2021 гг. в разных странах мира. Российские штаммы формируют единую кладу со штаммами *S. Typhimurium*, включая *S. Typhimurium* var. *Copenhagen* и «монофазные» *S. Typhimurium*. Полная версия филогенетического дерева представлена по ссылке

* Контактное лицо: Кафтырева Лидия Алексеевна, e-mail: kaflidia@mail.ru

<https://cloud.pasteurorg.ru/index.php/s/OFNDiL2bOE8olGr>. Полная версия филогенетического дерева, включающая все доступные в базе данных NCBI на момент выполнения работы геномы штаммов *S. Typhimurium* и монофазные варианты, доступна по ссылке <https://cloud.pasteurorg.ru/index.php/s/anTegUDl84moKHi>. Общая топология филогенетического дерева отражает множественность появления монофазных *S. Typhimurium*. Полученные результаты указывают на многократный завоз таких штаммов на территорию Санкт-Петербурга.

Ключевые слова: монофазная *Salmonella* Typhimurium, ST 34

THE FIRST FINDINGS OF MONOPHASIC *SALMONELLA* TYPHIMURIUM IN ST. PETERSBURG

^{1,2}Kaftyreva L.A. (leading scientific researcher, professor of the department), ^{1,2}Makarova M.A. (leading scientific researcher, associate professor), ¹Matveeva Z.N. (leading scientific researcher), ¹Plev D.E. (senior scientific researcher), ¹Saitova A.T. (laboratory researcher), ²Zhamborova M.H. (bacteriologist), ³Smirnova M.V. (bacteriologist), ³Meltzer A.A. (bacteriologist), ⁴Kondratieva Z.G. (bacteriologist), ¹Dedkov V.G. (deputy director for scientific work)

¹St. Petersburg Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur; ²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ³City Mariinsky Hospital; ⁴S.P. Botkin Clinical Infectious Diseases Hospital, St. Petersburg, Russia

The characteristics of *mdf* and *mds* genes of four strains of monophasic *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* (1,4,5,12:i:-) isolated in St. Petersburg are presented.

Based on the results of genome-wide sequencing, draft versions of genomes up to the contig level were collected and analyzed (available in the NCBI BioProject PRJNA995512 database). The strains belonged to 34 ST, had *mdsA* and *mdsB* efflux genes and different combinations of resistance genes to aminoglycosides, penicillins, sulfonamides and tetracycline. The genomes of all

strains contained operons responsible for resistance to metals and metalloids (mercury, arsenic, silver, copper, gold). Phylogenetic analysis made it possible to attribute Russian "monophasic" strains to the serological variant of *S. Typhimurium* and showed their relationship with a large clade of monophasic variants of *S. Typhimurium* isolated in 2004-2021 in different countries of the world. Russian strains form a single clade with *S. Typhimurium* strains, including *S. Typhimurium* var. *Copenhagen* and "monophasic" *S. Typhimurium*. The full version of the phylogenetic tree is presented at the link <https://cloud.pasteurorg.ru/index.php/s/OFNDiL2bOE8olGr>. The full version of the phylogenetic tree, including all the genomes of *S. Typhimurium* strains and monophasic variants available in the NCBI database at the time of the work, is available at the link <https://cloud.pasteurorg.ru/index.php/s/anTegUDI84moKHi>. The general topology of the phylogenetic tree reflects the multiplicity of the appearance of monophasic *S. Typhimurium*. The results obtained indicate the multiple importation of such strains to the territory of St. Petersburg.

Key words: monophasic *Salmonella Typhimurium*, ST 34

ВВЕДЕНИЕ

Монофазная *Salmonella enterica* серовар *Typhimurium* (1,4,5,12:i:-) – новый возбудитель пищевых вспышек на территории Европы. В последние 25 лет во многих странах мира часто регистрировали диарейные заболевания, вызванные «монофазной *Salmonella* серогруппы В», точнее – «монофазной *Salmonella Typhimurium*» с антигенной формулой 1,4,[5],12:i:-, которая занимала по частоте выделения 3-4 место после *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* с полным набором антигенов [1-4]. Исследованиями, проведенными во многих странах, подтверждено быстрое появление и распространение таких штаммов среди сельскохозяйственных и домашних животных, людей в различных регионах мира. Глобальная эпидемия, вызванная монофазным вариантом *S. Typhimurium*, характеризовалась ростом заболеваний, обусловленных возбудителем с множественной резистентностью к антимикробным препаратам (АМП) [5-7].

Впервые выделение таких штаммов было зафиксировано в Европе в 1997 г. Контаминация продуктов свиноводства и носительство их животными привели к распространению инфекции, обусловленной монофазным вариантом *S. Typhimurium*, до уровня глобальной чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения.

В Российской Федерации официальной регистрации заболеваний, вызванных монофазной *S. Typhimurium*, не отмечено, данные о циркуляции таких штаммов отсутствуют.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В лабораторию кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера поступили 4 штамма *Salmo-*

nella серогруппы В для реидентификации. Три штамма выделены от госпитализированных пациентов с гастроэнтеритом в 2015 г. (EI-426), 2019 г. (EI-592), 2022 г. (EI-403), один штамм – из мясных субпродуктов в 2016 г. (EI-698), у которых при реакции агглютинации не выявлен Н антиген фазы 2.

Видовую идентификацию проводили методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с применением системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper v.30 (Bruker Daltonics, Германия). Значения «Score» $\geq 2,2$ использовали в качестве критерия надежной идентификации. Морфологические, ферментативные свойства и антигенную характеристику изучали согласно действующим методическим указаниям. Для развития подвижности и определения Н антигенов применяли метод Свена-Гарда (МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллезов, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды»). Подвижность оценивали по характеру роста в столбике 0,3% полужидкого питательного агара. Ферментативные свойства выявляли в пробирочных тестах, используя среды Гисса с углеводами и многоатомными спиртами (глюкозой, лактозой, сахарозой, мальтозой, рамнозой, маннитом, дульцитом и сорбитом) и автоматический бактериологический анализатор VITEK-2 Compact (Biomerieux, Франция). Антигенную характеристику определяли в реакции агглютинации на стекле, с диагностическими адсорбированными поливалентными и моновалентными О- и Н- сыворотками (ФГУП СПбНИИВС «ПЕТСАЛ», ЗАО «ЭКОлаб», Россия). Чувствительности к 14 АМП устанавливали двумя методами: диско-диффузионным к 13 антибиотикам (ампициллину, амоксициллин/клавулановой кислоте, цефтазидиму, цефотаксиму, меропенему, налидиксовой кислоте, пefлоксацину, тетрациклину, хлорамфениколу, триметоприм/сульфаметоксазолу, гентамицину, амикацину, азитромицину) и методом градиентной диффузии (Е-тест) – к ципрофлоксацину. Тестирование выполняли на агаре Мюллера-Хинтона (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с дисками и Е- тестами (Biomerieux, Франция). Интерпретацию результатов проводили согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» 2015 -2021 г. и критериям EUCAST 2015-2022 гг.

Для молекулярно-генетических исследований выделение ДНК осуществляли из изолированных колоний сальмонелл, выращенных на колумбийском агаре с бараньей кровью в течение 18-24 час, набором QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Концентрацию ДНК измеряли флуориметрически на приборе Qubit 4.0 с использованием красителя pico488 (ООО

«Люмипроб РУС», Россия). Приготовление библиотек ДНК и секвенирование выполняли с применением разных платформ. Библиотеку для образца EI0403 готовили из 500 нг геномной ДНК с помощью набора реактивов TruSeq DNA Nano (Illumina, США) с фрагментацией ультразвуком на приборе Covaris M220 (Covaris, США) согласно протоколу производителя. Секвенирование проводили в парно-концевом режиме на секвенаторе MiSeq (Illumina, США) с длиной прочтений 2*300. Библиотеки для образцов EI0426 и EI0698 готовили из 50 нг геномной ДНК с применением набора MGIEasy FS DNA Library Prep Set (MGI, Китай) согласно протоколу производителя. Секвенирование осуществляли на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) с длиной прочтений 2*100. Библиотеку для образца EI0592 готовили с помощью набора DNA Prep (Illumina, США). Секвенирование выполняли на приборе NextSeq-550 (Illumina, США) с длиной прочтений 2*150. Сырые прочтения обрабатывали программой Trim Galore! (версия 0.6.7) для удаления последовательностей адаптеров и обрезки прочтений по уровню качества. Контроль качества обработки производили в программе FastQC (версия 0.11.9), сборку геномов *de novo* – с помощью ПО SPAdes assembler (версия 3.13.1) [8]. Результаты сборки оценивали в QUAST (версия 5.2.0) [9]. Для типирования штаммов по 7 локусам использовали подход Ларсена и соавторов, реализованный в пакете программ MLST 2.0 [10]. Детекцию серологического варианта штамма осуществляли с помощью программы SeqSero2 [11, 12]. Поиск генетических факторов устойчивости к АМП проводили в программе AMRFinder [13]. Для мультилокусного типирования последовательностей геномов (cgMLST (core genome multilocus sequence typing)) применяли программу cgMLSTFinder 1.2 [14, 15]. Поиск однонуклеотидных различий между эталонным геномом и полученными сборками производили в Snippy. На основании выявленных различий программой FastTree были построены филогенетические деревья методом максимального правдоподобия. Визуализацию деревьев выполняли в программе ToyTree. Геномы из международной базы данных NCBI для дерева с различными сероварами *Salmonella enterica* subsp. *enterica* выбирали случайно, серовары этих геномов подтверждались с помощью SeqSero2.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Штаммы имели характерные морфологические (грамотрицательные подвижные палочки) свойства, типично росли на дифференциально-диагностических плотных питательных средах. Колонии были в S форме: розового цвета (бриллиант-грюн агар), бесцветные (Мак-Конки, Эндо, Плоскирева агары), черные с бесцветным ободком (ксилозо-

лизин-деоксихолат агар), с черным центром (сальмонелла шигелла агар), черные (висмут сульфит агар). Штаммы ферментировали глюкозу, рамнозу, ксилозу, арабинозу, мальтозу, дульцит, сорбит, трегалозу, маннит; давали положительную реакцию с метиловым красным, цитратом Симмонса, отрицательную реакцию Фогес-Проскауэра – с индолом; продуцировали H₂S, не утилизировали мочевины, лактозу и сахарозу. Бактериологический анализатор VITEK-2 Compact подтвердил, что штаммы относятся с вероятностью 99,9% к *Salmonella* spp., достоверность «отличная идентификация». Все штаммы были чувствительны к азитромицину, амикацину и гентамицину, хлорамфениколу, меропенему и фторхинолонам. Характеризовались индивидуальными спектрами резистентности: к триметоприм/сульфаметоксазолу, ампициллину, цефтазидиму, цефотаксиму, и тетрациклину. В реакции агглютинации на стекле штаммы выпадали в виде хлопьев агглютината, формирующихся внутри капли на фоне ее просветления через несколько секунд в О сыворотках 1, 4, 5, 12 и Н сыворотке «i». У штаммов отсутствовала агглютинация в Н сыворотках второй фазы: антигены «1,2» (S.Typhimurium); «1,5» (S. Lagsos); «1,6» (S. Agama); «enx» (S. Farsta); «enz₁₅» (S.Tsevie); «l,w» (S. Gloucester); «z6» (S. Tumodi); «z35» (S. enterica subsp. salamae с антигенной формулой 4, 12, 27), которые согласно схеме «Антигенных формул сероваров сальмонелл» (Patrick A.D. Antigenic formulae of the salmonella serovars, 2007) встречались у восьми сероваров сальмонелл серологической группы В в сочетании с Н антигеном «i» (табл. 1). При этом подвижность изученных штаммов была выражена и фенотипически не отличалась от штаммов с полным набором Н антигенов. Применение метода Свена-Гарда (подавление Н-антигена фазы 1 «i») не приводило к развитию (восстановлению) Н антигенов фазы 2: 1,2; 1,5; 1,6; enx, enz₁₅, l,w, z6, z35.

Таблица 1

Серологические варианты *Salmonella* группы В, содержащие Н-антиген фазы 1 «i»

п/п	Серовар	Антигенная формула		
		О антигены	Н антиген	
			фаза 1	фаза 2
1	S.Typhimurium	1,4,[5],12	i	1,2
2	S. Lagsos	1,4,[5],12	i	1,5
3	S. Agama	4,12	i	1,6
4	S. Farsta	4,12	i	enx
5	S.Tsevie	4,12	i	enz ₁₅
6	S. Gloucester	1,4,12,27	i	l,w
7	S. Tumodi	1,4,12	i	z6
8	S. salamae	4,12,27	i	z35
9	S.Typhimurium (монофазная)*	1,4, 5,12	i	-

- Четыре Российских штамма № EI 403, EI 426, EI 592, EI 698

По результатам полногеномного секвенирования были собраны черновые версии геномов бактерий до уровня контигов. Статистика по сборкам, полученная с помощью программы Quast, представлена в таблице 2. Качество геномных сборок позволяет проводить их дальнейший биоинформатический анализ. Сборки доступны в базе данных NCBI под номером биопроекта (BioProject) PRJNA995512.

Таблица 2

Статистика по геномным сборкам

Штамм	Кол-во контигов более 200 п.н.	Макс. длина контигов (п.н.)	N50	N90	Общая длина сборки (п.н.)
EI0403	101	919452	282781	69185	5027416
EI0426	109	625463	163389	45232	4923224
EI0592	127	820655	158682	42067	4938546
EI0698	138	416685	102214	37989	5001589

Полученные сборки были проанализированы с применением ряда общепринятых биоинформатиче-

ских программ для определения основных молекулярно-генетических характеристик штаммов, используемых в эпидемиологии. Результаты представлены в таблице 3. Все штаммы относились к 34 сиквенс-типу (ST), имели антигенную формулу 1, 4,5,12:i:-, что не позволяет однозначно отнести их к серологическому варианту *S. Typhimurium*. Выявлены гены резистентности к аминогликозидам, пенициллинам, сульфаниламидам и тетрациклину. В штамме EI0698 не были обнаружены гены устойчивости к определённым АМП, но он имел гены эффлюкса *mdsA* и *mdsB*, отвечающие за множественную устойчивость. Кроме того, геномы всех штаммов содержали опероны, отвечающие за устойчивость бактерий к металлам и металлоидам (ртуть, мышьяк, серебро, медь, золото). При анализе геномов на наличие генов вирулентности у всех штаммов наблюдали гены вирулентности *sinH* и *sodC1*, в геномах трёх штаммов присутствовали гены *iroB* и *iroC*, в геноме одного штамма – ген *iss*.

Таблица 3

Основные молекулярно-генетические характеристики штаммов, определённые при биоинформатическом анализе геномных сборок

Номер штамма	Антигенная формула	Сиквенс-тип (MLST)	Кор-геномный сиквенс-тип (cgMLST)	Гены устойчивости к		Гены факторов вирулентности
				АМП	металлам и металлоидам	
EI0403	1,4,5,12:i:-	34	2282	<i>aph(6)-IId, aph(3'')-Ib, sul2, blaTEM-1, mdsB, mdsA</i>	<i>merCPRT, arsABC DR, silABCEFP RS, pcoACDRS, golST</i>	<i>sinH, sodC1, iroB, iroC</i>
EI0426	1,4,5,12:i:-	34	55289	<i>tet(B), aph(6)-IId, aph(3'')-Ib, sul2, blaTEM-1, blaCTX-M-15, mdsB, mdsA</i>	<i>merCPRT, arsABC DR, silABCEFP RS, pcoACDRS, golST</i>	<i>sinH, sodC1</i>
EI0592	1,4,5,12:i:-	34	179919	<i>tet(B), sul2, aph(3'')-Ib, aph(6)-IId, blaTEM-1, mdsA, mdsB</i>	<i>merCPRT, pcoACDRS, silABCEFP RS, arsABC DR, golST</i>	<i>iss, sinH, iroC, iroB, sodC1</i>
EI0698	1,4,5,12:i:-	34	17881	<i>mdsA, mdsB</i>	<i>arsABC DR, silABCEFP RS, pcoACDRS, golST</i>	<i>sinH, iroB, iroC, sodC1</i>

Отсутствие H-антигена второй фазы не позволяет однозначно идентифицировать серологический вариант штаммов с антигенной формулой (1,4,5,12:i:-). Для подтверждения принадлежности штаммов к *S. Typhimurium* было построено филогенетическое дерево разных сероваров *Salmonella enterica* subsp. *enterica* на основании полногеномного SNP-типирования. В работе представлены результаты по геномным последовательностям штаммов 28 сероваров, загруженных из базы данных NCBI. Для упрощения работы использованы не более 20 случайно отобранных геномных последовательностей для сероваров, кроме *S. Typhimurium*, для которого были отобраны 55 последовательностей, включая «монофазные» варианты. Принадлежность геномов к определённым серовариантам предварительно проверили с помощью программы SeqSero2. В качестве

внешней группы использовали геном *Salmonella enterica* subsp. *salamae*. Как показано на рисунке 1, российские «монофазные» штаммы формируют единую кладу со штаммами *S. Typhimurium*, включая *S. Typhimurium* var. *Copenhagen* (без O-антигена 5) и «монофазные» *S. Typhimurium* (без H-антигена фазы 2), что позволяет однозначно отнести их к *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium*.

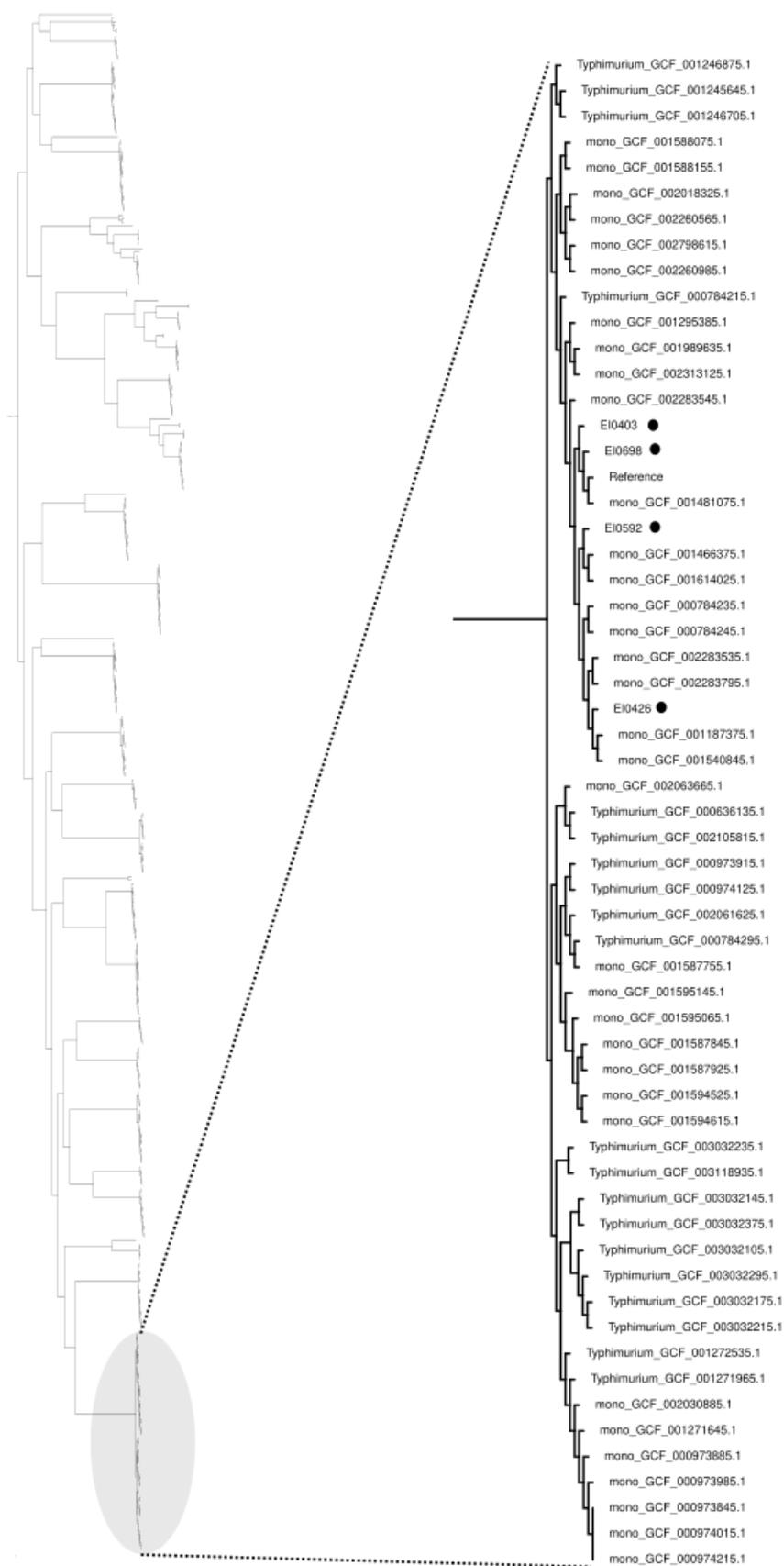


Рис. 1. Филогендрограмма, отображающая филогенетическую близость изучаемых «монофазных» штаммов к серовару *S. Typhimurium*.

Филогенетическое дерево построено на основании полногеномных нуклеотидных последовательностей 410 штаммов, относящихся к 22 серовариантам *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. В качестве внешней группы был использован геном штамма *Salmonella enterica* subsp. *salamae*. Полную версию филогенетического дерева можно найти по ссылке <https://cloud.pasteurorg.ru/index.php/s/OFNDiL2bOE8olGr>.

Для того, чтобы понять происхождение Российских штаммов, на основании полногеномного SNP-типирования было построено филогенетическое дерево, включающее все доступные в базе данных NCBI на момент выполнения работы геномы штаммов *S. Typhimurium* и их монофазные варианты (1, 4, [5], 12:i:-). В качестве внешней группы использовали геном штамма серологической группы C1 (6,7,14:eh:enz15) *S. Braenderup* (GCF_001245025.1). Полная версия дерева доступна по ссылке <https://cloud.pasteurorg.ru/index.php/s/anTegUD184moKHi>. Общая топология филогенетического дерева отражает множественность появления монофазных вариантов *S. Typhimurium*, тогда как российские изоляты относятся к большой кладе монофазных вариантов *S. Typhimurium*, выделенных в 2004-2021 гг. в разных странах мира.

ОБСУЖДЕНИЕ

Salmonella enterica включает более 2 500 самостоятельных серологических вариантов, из которых *S. enterica* serovar *Typhimurium* (*S. Typhimurium*) отличается многолетним широким распространением в объектах окружающей среды и зоонозных резервуарах инфицирования человека; на его долю приходится значительная часть сальмонеллезных инфекций в мире. В последние 20 лет монофазный вариант *S. Typhimurium* являлся одним из распространенных сероваров во многих странах: пищевые вспышки регистрировали в Италии, Швейцарии, Словакии, Испании, в Люксембурге, Германии, Франции, США. Многие из этих вспышек были связаны с контаминированными мясными продуктами (свининой, говядиной и мясом птицы). Частое выявление монофазной *S. Typhimurium* (1,4,[5],12:i:-) от людей и животных наблюдали в Японии [16].

В 2010 г. монофазная *S. Typhimurium* занимала 4-е место в списке ведущих сероваров *Salmonella* spp., выделенных от людей, в странах Евросоюза. Тем не менее, по данным Европейского центра профилактики и контроля заболеваний (ECDC), информация относительно циркуляции штаммов этого варианта *S. Typhimurium* неполная, так как некоторые страны могли зарегистрировать их как *Salmonella* группы В или как нетипируемые *Salmonella enterica*.

В 2022 г. в Великобритании были зарегистрированы случаи сальмонеллеза «монофазной *S. Typhimurium*» ST 34 с MDR-резистентностью к АМП

(пенициллинам, аминогликозидам, хлорамфениколу, сульфаниламидам, триметоприму и тетрациклинам). При эпидемиологическом расследовании выявили связь заболевших с шоколадной продукцией бельгийского производства, продаваемой как минимум в 113 странах, включая Российскую Федерацию. Из 11 стран поступили сообщения о 151 «генетически» связанном случае заболевания, предположительно, вызванного употреблением шоколадных изделий. (WHO 26.04.2022 г. Вспышка *S. Typhimurium* в нескольких странах в связи с оборотом шоколадной продукции – Европа и США. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON369>).

Заболевание протекало в тяжелой форме; пациенты (89%) – дети младше 10 лет, из которых каждый второй ребенок (41,3%) нуждался в госпитализации. Ситуация, возникшая в Европейских странах в 2022 г., вызванная монофазной *S. Typhimurium* ST 34, получила статус «чрезвычайной» в области глобального общественного здравоохранения.

В ходе наших исследований установлено, что в РФ также встречались монофазные варианты *S. Typhimurium*. Данные филогенетического анализа свидетельствуют о генетическом родстве изученных четырех российских изолятов со штаммами «монофазных» вариантов *S. Typhimurium*, выделенных с 2004 по 2021 гг. в разных регионах мира на различных континентах и формирующих отдельную кладу среди *S. Typhimurium*. Полученные результаты указывают на многократное проникновение (завоз) таких штаммов в г. Санкт-Петербург.

Возбудитель «монофазная *S. Typhimurium*» был идентифицирован с помощью современных молекулярных технологий, которые пока не получили широкого распространения в лабораторной диагностике бактериальных возбудителей диарейных заболеваний. Широкомасштабное применение WGS (whole genome sequencing) за последние 10-15 лет выявило филогенетические ассоциации различных генов бактерии, включая гены резистентности к АМП и металлам, показало, что различные клоны возбудителя возникли после множества независимых событий в бактериальной клетке во многих странах и прояснило роль этого зоонозного патогена в распространении резистентности к АМП. По данным литературы, «монофазные» варианты могут не экспрессировать Н-антиген в силу различных генетических нарушений как в кодирующей части гена, так и в регуляторных областях. Наиболее часто встречаются различные варианты делеций [17].

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что появление на территории России монофазного варианта *S. Typhimurium* ST 34 – доминирующего пандемического «международного» клона с устойчивостью к АМП, возможно, вызвано «завозом» данного возбудителя с пищевыми продук-

тами или другими факторами передачи и требует разработки конкретных мер профилактики, диагностики и эпидемиологического надзора за инфекцией, обусловленной монофазным вариантом *S. Typhimurium* ST 34.

ВЫВОДЫ

1. Идентифицированы штаммы монофазной *Salmonella* Typhimurium, которые вызывали диарейные заболевания в 2015-2022 гг. у пациентов в Санкт-Петербурге.

2. Российские штаммы монофазной *S. Typhimurium* принадлежали к ST 34, содержали гены резистентности к АМП, металлам и металлоидам, но оставались чувствительными к азитромицину, меропенему и фторхинолонам.

3. Филогенетический анализ выявил генетическое родство российских изолятов со штаммами «монофазных» вариантов *S. Typhimurium*, выделенных с 2004 по 2021 гг. в разных регионах мира.

4. Полученные результаты указывают на многолетнее проникновение (завоз) «монофазных» вариантов *S. Typhimurium* в Санкт-Петербург.

ЛИТЕРАТУРА

1. Petrovska L., Mather A.E., Abu Oun M., et al. Microevolution of monophasic *Salmonella* Typhimurium during epidemic, United Kingdom, 2005–2010. *J. Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22: 617- 624. doi: 10.3201/eid2204.150531
2. Palma F., Manfreda G., Silva M., et al. Genome-wide identification of geographical segregated genetic markers in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium variant 4,[5],12:i:-. *Sci. Rep.* 2018; 8 (15251). doi: 10.1038/s41598-018-33266-5
3. Bawn M., Thilliez G., Wheeler N., et al. Evolution of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium driven by anthropogenic selection and niche adaptation. *bioRxiv.* 2019; 804674. doi: <https://doi.org/10.1101/804674>
4. Honghu S., Yuping W., Pengcheng D., et al. The epidemiology of monophasic *Salmonella* Typhimurium. *J. Foodborne Pathogens and Disease.* 2020; 17: 87-97. doi: 10.1089/fpd.2019.2676
5. Molina-López R.A., Vidal A., Obón E., et al. Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium monophasic variant 4,12:i:- isolated from asymptomatic wildlife in a Catalonian wildlife rehabilitation center, Spain. *J. Wildl. Dis.* 2015; 51 (3): 759-763. doi: 10.7589/2015-01-019.
6. García P., Malorny B., Rodicio M.R., et al. Horizontal acquisition of a multidrug-resistance module (R-type ASSuT) is responsible for the monophasic phenotype in a widespread clone of *Salmonella* serovar 4,[5],12:i:-. *J. Front Microbiol.* 2016; 7: 680. doi: 10.3389/fmicb.2016.00680
7. Qin X., Yang M., Cai H., et al. antibiotic resistance of *Salmonella* typhimurium monophasic variant 1,4,[5],12:i:- in china: a systematic review and meta-analysis. *Antibiotics (Basel).* 2022; 11 (4): 532. doi: 10.3390/antibiotics11040532
8. Prjibelski A., Antipov D., Meleshko D., et al. Using SPAdes De Novo Assembler . *CP in Bioinformatics.* 2020; 70 (1): E102. doi: 10.1002/cpbi.102
9. Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., et al. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics.* 2013; 29 (8): 1072-1075. doi: 10.1093/bioinformatics/btt086
10. Larsen M.V., Cosentino S., Rasmussen S., et al. Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (4): 1355-1361. doi: 10.1128/JCM.06094-11
11. Zhang S., den Bakker H.C., Li S., et al. SeqSero2: rapid and improved *Salmonella* serotype determination using whole-genome sequencing data. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019; 85 (23): e01746-19. doi: 10.1128/AEM.01746-19
12. Zhang S., Yin Y., Jones M.B., et al. *Salmonella* serotype determination utilizing high-throughput genome sequencing data. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53 (5): 1685-92. PMID: 25762776
13. Feldgarden M., Brover V., Gonzalez-Escalona N., et al. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Sci Rep.* 2021; 11 (1): 12728. doi: 10.1038/s41598-021-91456-0. PMID: 34135355; PMCID: PMC8208984
14. Clausen P.T.L.C., Aarestrup F.M., Lund O. Rapid and precise alignment of raw reads against redundant databases with KMA. *BMC Bioinformatics.* 2018; 19 (1): 307. doi: 10.1186/s12859-018-2336-6
15. Alikhan N.-F., Zhou Z., Sergeant M. J., Achtman M. A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. *PLoS Genet / ed. Casadesús J.* 2018; 14 (4): e1007261. doi: 10.1371/journal.pgen.1007261
16. Nobuo A., Tsuyoshi S., Tamamura. Y., et al. Phylogenetic characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and its monophasic variant isolated from food animals in japan revealed replacement of major epidemic clones in the last 4 decades. *J. of Clin. Microbiol.* 2018; 56 (5). doi: 10.1128/JCM.01758-17
17. Arrieta-Gisasola A., Atxaerandio-Landa A., Garrido V., et al. Genotyping study of *Salmonella* 4,[5],12:i:- monophasic variant of serovar Typhimurium and characterization of the second-phase flagellar deletion by whole genome sequencing. *Microorganisms.* 2020; 8 (12): 2049. doi: 10.3390/microorganisms8122049

Поступила в редакцию журнала 04.09.23

Принята к печати 14.09.23

Для цитирования: Карнаухова М.Т., Корнишева В.Г., Фролова Е.В. Псориаз и патология сердечно-сосудистой системы (обзор литературы). 2023; 25 (3): 10-13. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-10-13

For citation: Karnaukhova M.T., Kornisheva V.G., Frolova E.V. Psoriasis and pathology of the cardiovascular system (literature review). 2023; 25 (3): 10-13. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-10-13

ПСОРИАЗ И ПАТОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Карнаухова М.Т. (врач-дерматовенеролог)*, Корнишева В.Г. (профессор кафедры), Фролова Е. В. (зав. лаб.)

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

Псориаз – хроническое иммуновоспалительное заболевание кожи, поражающее около 125 миллионов человек во всем мире. Современные представления о патогенезе, генетике, сопутствующих заболеваниях и применении генно-инженерных биологических препаратов способствуют достижению высоких и быстрых результатов в лечении псориаза. Псориаз протекает в результате развития системно-воспалительной реакции, сочетающейся с большим спектром коморбидных состояний.

Доказана связь псориаза и псориатического артрита с многочисленными сопутствующими заболеваниями, включая кардиометаболические, желудочно-кишечные, патологию почек, а также злокачественные новообразования и инфекции. Среди сопутствующей патологии особое значение имеют сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). Псориаз может быть независимым фактором риска преждевременно формирующихся сердечно-сосудистых патологий. Тяжесть течения псориаза и наличие сопутствующей патологии влияют на продолжительность жизни пациентов. Именно поэтому необходим поиск новых чувствительных биомаркеров, которые могли бы отражать как активность псориаза, так и уровень системного воспаления. Недавно был изучен новый биомаркер повреждения сосудов у больных псориазом – YKL-40, который представляет собой гликопротеин, связывающий гепарин и хитин 40 кДа, также известный как хитиназа-3-подобный белок 1 (CHI3L1) 1, гепарин-связывающий гликопротеин 38 кДа или гликопротеин хряща человека 39 (HC gp-39). Многие исследования показали, что уровни YKL-40 в сыворотке крови у пациентов с псориазом были повышены. Однако этот вопрос нуждается в дальнейшем, более детальном, изучении.

Ключевые слова: псориаз, заболевания сердечно-сосудистой системы, биомаркеры активности псориаза, YKL-40

PSORIASIS AND PATHOLOGY OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM (LITERATURE REVIEW)

Karnaukhova M.T. (dermatovenereologist), Kornisheva V.G. (professor of the department), Frolova E. V. (head of the laboratory)

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

Psoriasis is a chronic immuno-inflammatory skin disease affecting approximately 125 million people worldwide. Current understanding of pathogenesis, genetics, co-morbidities and the use of genetically engineered biologic drugs have contributed to high and rapid results in the treatment of psoriasis. Psoriasis occurs as a result of the development of a systemic inflammatory response combined with a large spectrum of comorbid conditions. The association of psoriasis and psoriatic arthritis with numerous comorbidities including cardiometabolic, gastrointestinal diseases, renal pathology, and malignancies and infections has been proven. Among the comorbidities, cardiovascular disease (CVD) is of particular importance. Psoriasis may be an independent risk factor for prematurely formed cardiovascular pathologies. The severity of the course of psoriasis and the presence of concomitant pathology affects the life expectancy of patients. That is why it is necessary to search for new sensitive biomarkers that could reflect both psoriasis activity and the level of systemic inflammation. A new biomarker of vascular damage, YKL-40, was recently studied in patients with psoriasis. YKL-40 is a 40 kDa heparin and chitin-binding glycoprotein, also known as chitinase-3-like protein 1 (CHI3L1) 1, heparin-binding glycoprotein 38 kDa or human cartilage glycoprotein 39 (HC gp-39). Many studies have shown that serum YKL-40 levels have been elevated in patients with psoriasis. However, this issue needs to be further investigated in more detail.

Key words: psoriasis, cardiovascular diseases, biomarkers of psoriasis activity, YKL-40.

Псориаз – хроническое иммуновоспалительное заболевание кожи, поражающее около 125 миллионов человек во всем мире (по данным ВОЗ на 2016 г.). Современные представления о патогенезе, генетике, сопутствующих заболеваниях и применении генно-инженерных биологических препаратов способствуют достижению высоких и быстрых результатов в терапии псориаза. Патогенетически псориаз рассматривается как иммуновоспалительное заболе-

* Контактное лицо: Карнаухова Марина Тамазовна, e-mail: Marina.Karnaukhova@szgmu.ru

вание, в основе которого лежит активация Th1 и Th17 с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов TNF- α , IFN- γ , IL-17 и IL-22. Изменения представления о патогенезе заболевания и междисциплинарный подход к лечению пациентов способствовали значительному прогрессу определения сопутствующих заболеваний, связанных с псориазом. Лица с тяжелым течением псориаза или началом заболевания в молодом возрасте подвергаются более высокому риску кардиометаболических сопутствующих заболеваний, чем население в целом. Тяжелое течение псориаза связано с повышенным риском инфаркта миокарда, инсульта и сердечно-сосудистой смертности и является независимым фактором риска этих неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов [1].

По данным официальной государственной статистики, в Российской Федерации распространенность псориаза в 2021 г. составила 243,7 случаев на 100 тыс. населения, заболеваемость псориазом – 59,3 на 100 тыс. населения [2]. Псориаз протекает в результате развития системно-воспалительной реакции, сочетающейся с большим спектром коморбидных состояний [3]. Доказана связь псориаза и псориатического артрита с многочисленными сопутствующими заболеваниями, включая кардиометаболические, желудочно-кишечные, патологию почек, а также злокачественные новообразования и инфекции. Среди сопутствующей патологии особое значение имеют сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [4], такие как атеросклероз, гипертония, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, инсульт и аритмии [5].

Пациенты в возрасте старше 60 лет имеют повышенный риск развития ССЗ даже при условии контроля факторов риска (ожирение, злоупотребление алкоголем, курения). Это дает возможность предполагать, что псориаз может быть независимым фактором риска преждевременно формирующихся сердечно-сосудистых патологий [6].

Цитокиновые профили поражения кожи при псориазе и атеросклерозе очень схожи, что выражается в увеличении количества Th1- и Th17-лимфоцитов. Подобно больным псориазом, у пациентов с ишемической болезнью сердца отмечается повышение уровня цитокинов Th17 (IL-17, IL-6, IL-8) в периферической крови. Таким образом, повышение Th17-лимфоцитов у больных псориазом может способствовать воспалению сосудов и развитию атеросклероза и ССЗ. Однако причинно-следственная связь между системным воспалением при псориазе и развитием ССЗ остается не до конца изученной. Предполагается, что псориаз может вызывать системное воспаление, приводящее к инсулинорезистентности, эндотелиальной дисфункции, развитию атеросклероза и сопутствующих ССЗ [6].

В ряде исследований установлено, что адипокины могут быть вовлечены в развитие метаболического синдрома и ССЗ. Также было показано, что больные псориазом чаще страдают инсулинорезистентностью, нежели здоровые люди. А развитие инсулинорезистентности наряду с другими факторами может служить объяснением повышенного риска развития атеросклероза и сопутствующих ССЗ [6].

Как поражение кожи при псориазе, так и атеросклеротические бляшки характеризуются повышенным ангиогенезом. Продукция проангиогенных факторов может приводить к развитию и прогрессированию атеросклероза. Кроме того, в основе взаимосвязи псориаза с атеросклерозом могут лежать общие сигнальные пути окислительного стресса [6].

Взаимосвязь между псориазом и повышенной частотой серьезных неблагоприятных ССЗ отмечена в многочисленных эпидемиологических исследованиях. Впервые продемонстрировано, что риск, связанный с ССЗ, был в 2,2 раза выше у более чем 300 госпитализированных больных псориазом, чем в контрольной группе лиц с другими дерматологическими заболеваниями [7].

Проспективное популяционное когортное исследование показало, что пациенты, страдающие псориазом, имели более высокую частоту инфаркта миокарда (ИМ), что положительно коррелировало с тяжестью заболевания. Кроме того, риск инфаркта миокарда был выше у молодых 30-летних псориатических пациентов, и этот риск возрастал после поправки на основные факторы риска ИМ, что позволяло предположить, что псориаз сам по себе дает независимый риск ИМ. Этот аспект также был подтвержден Brauchli и соавт. (2009), которые обнаружили самый высокий уровень заболеваемости ИМ у больных в возрасте 30-39 лет с тяжелым течением псориаза [5].

В 2014 г. в ретроспективном исследовании, проведенном Favarato M.H. и соавторами, показано, что сопутствующее наличие артериальной гипертензии (АГ) и сахарного диабета (СД) повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с псориатическим артритом (ПСА). Распространенность АГ и СД была достоверно выше у больных ПСА, перенесших ССЗ, по сравнению с пациентами без ССЗ и составила: 95% против 45% (АГ) и 60% против 19% (СД). Эти аспекты имеют важное значение для раннего выявления и целенаправленного лечения сопутствующих заболеваний у больных псориазом с целью снижения заболеваемости и смертности [8].

В 2015 г. Seremet S. и коллегами было проведено исследование «случай-контроль» с участием 40 пациентов с псориазом и 42 лиц контрольной группы, сопоставимых по возрасту, полу и профилю сердечно-сосудистого риска, с целью изучения распро-

странности коронарной кальцификации. Одинаковая распространенность кальцинированных и некальцинированных атеросклеротических поражений коронарных артерий отмечена в обеих группах [9]. И, наоборот, в другой работе показано, что больные псориазом имеют более высокий показатель коронарного кальция (САС), который напрямую коррелирует с тяжестью псориаза [10].

В 2022 г. Gao N. с соавторами выявили, что генетическая предрасположенность к псориазу связана с более высоким риском сердечной недостаточности, фибрилляции предсердий, инфаркта миокарда, порока клапанов сердца и инсультом крупных сосудов. На основании данного исследования был сделан вывод, что ранняя оценка сердечно-сосудистого риска у пациентов с псориазом способствует скорейшему внедрению индивидуально-специфических методов лечения [11].

Как в европейской, так и в восточно-азиатской популяциях псориаз достоверно связан с повышенным риском заболеваемости ИБС и ИМ. Положительная генетическая связь псориаза с ИБС была обнаружена у лиц из Европы и Восточной Азии. Также установлено, что псориаз был причинно связан с повышенным риском развития ИМ у населения европейской популяции [12]. Тяжесть течения псориаза и наличие сопутствующей патологии влияет на продолжительность жизни пациентов. Именно поэтому необходим поиск новых чувствительных биомаркеров, которые могли бы отражать и активность псориаза, и уровень системного воспаления.

У больных псориазом недавно изучен новый биомаркер повреждения сосудов – УКЛ-40 [5], который представляет собой гликопротеин, связывающий гепарин и хитин 40 кДа, также известный как хитиназа-3-подобный белок 1 (СН13Л1) 1, гепарин-связывающий гликопротеин 38 кДа или гликопротеин хряща человека 39 (НС gr-39). Он экспрессируется и секретируется различными видами клеток (хондроцитами, фибробластоподобными синовиальными клетками, клетками гладких мышц сосудов и макрофагами). В свою очередь УКЛ-40 стимулирует пролиферацию клеток соединительной ткани человека (фибробластов, хондроцитов, синовиальных клеток) дозозависимым образом. Считается, что УКЛ-40 играет важную роль в поддержании хронического воспаления, ремоделировании внеклеточного матрикса и ангиогенезе. Установлено, что УКЛ-40 имеет важное значение при различных аутоиммунных заболеваниях, модулируя ответы Th1 и Th2, однако точная роль данного биологического медиатора в патогенезе сейчас активно изучается [13].

В базе данных PUBMED были найдены исследования, связанные с определением УКЛ-40 в сыворотке крови больных псориазом и здоровых лиц. В 2021 г. Shrook A. и коллеги установили по-

ложительную корреляционную связь между уровнями УКЛ-40, IL-17 и значением индекса распространенности и тяжести псориаза (PASI) у пациентов с заболеванием средней и тяжелой степени до и после лечения [14]. По данным Baran A. и соавторов, содержание УКЛ-40 было значимо выше у больных псориазом по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). Однако не обнаружено значимых корреляций между изучаемым параметром и метаболическими показателями, такими как индекс массы тела, уровни глюкозы и липидов. Отмечена значимая положительная связь с СРБ и аланинаминотрансферазой и отсутствие корреляции с индексом PASI. Несмотря на клиническое улучшение, уровень УКЛ-40 в сыворотке крови оставался неизменным после местного лечения [15]. В 2019 г. El-Hamd M-A. и коллеги провели исследование по типу «случай-контроль», в которое включили 30 человек с вульгарным псориазом и 20 здоровых лиц. Все пациенты получали 2 раза в неделю в течение 3 месяцев фототерапию NB-UVB. Базовые показатели УКЛ-40 были значимо выше у лиц с вульгарным псориазом по сравнению со здоровыми ($p < 0,001$). После окончания терапии у больных вульгарным псориазом наблюдали значительное снижение сывороточных уровней УКЛ-40 и PASI ($p < 0,001$) [16].

Ahmed S.F. и соавторы обследовали 48 пациентов с псориазом (у 26 из них был псориазический артрит) и 30 человек контрольной группы с помощью ультразвуковой доплерографии высокого разрешения сосудов суставов (УДС), также исследовали уровни УКЛ-40 в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Составной индекс активности псориазического заболевания (СИАПС), показатели толщины синовиальной оболочки и УДС были значительно выше у больных псориазическим артритом ($P < 0,001$). У всех пациентов СИАПС, толщина синовиальной оболочки и показатель УДС положительно коррелировали друг с другом, и каждый из них положительно коррелировал с уровнями УКЛ-40 в сыворотке крови ($P < 0,05$). Статистически значимое повышение уровня УКЛ-40 было выявлено у больных псориазом в сочетании с псориазическим артритом или без него в сравнении с контрольной группой ($p < 0,001$), а также у пациентов с псориазическим артритом по сравнению с лицами без артрита ($p = 0,002$) [17]. Salomon J. С коллегами также было подтверждено, что УКЛ-40 можно использовать в качестве биомаркера у больных псориазом. В исследование было включено 55 пациентов с псориазом – 21 мужчина и 34 женщины в возрасте от 18 до 88 лет. Концентрация УКЛ-40 в сыворотке крови была достоверно выше у больных псориазом, чем в контрольной группе. Корреляций между уровнями УКЛ-40 и другими клиническими или лабораторными показателями не обнаружено. Однако уровень УКЛ-40 в сыворотке крови был по-

вышен у 81,8% пациентов, тогда как СРБ и лейкоциты – у 20% и 7,3% соответственно [18].

ВЫВОДЫ

Псориаз протекает в результате развития системно-воспалительной реакции, сочетающейся с большим спектром коморбидных состояний [3].

YKL-40 может быть использован в качестве нового биомаркера ангиогенеза и активности заболевания как псориаза с псориатическим артритом, так и псориаза с сопутствующей патологией сердечно-сосудистой системы [18]. Однако этот вопрос требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аликбаев Т.З., Фролова Е.В., Гулордава М.Д. и др. Современные представления о патогенезе, клинике и течении тяжелого псориаза. Проблемы медицинской микологии. 2021; 23 (4): 9-16. [Alikbaev T.Z., Frolova E.V., Gulordava M.D. Modern ideas about the pathogenesis, clinic and treatment of severe psoriasis. Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (4): 9-16. (In Russ)]. doi: 10.24412/1999-6780-2021-4-9-16
2. Кубанов А.А., Бакулев А.Л., Карамова А.Э. и др. Клинические рекомендации: Псориаз. Общероссийская общественная организация «Российское общество дерматовенерологов и косметологов». 2022: 7. [Kubanov A.A., Bakulev A.L., Karamova A.E., et al. Clinical recommendations: Psoriasis. All-Russian public organization "Russian Society of Dermatovenereologists and Cosmetologists". 2022: 7 (In Russ)].
3. Heitmann J., Frings V., Geier A., et al. Non-alcoholic fatty liver disease and psoriasis – is there a shared proinflammatory network? Journal of the German society of Dermatology. 2021; 19 (4): 517-528. doi: 10.1111/ddg.14425
4. Boehncke W-H. Systemic inflammation and cardiovascular comorbidity in psoriasis patients: causes and consequences. Front Immunol. 2018; 9: 579. doi: 10.3389/fimmu.2018.00579
5. Ganzetti G., Campanati A., Molinelli E. and Offidani A-M. Psoriasis, non-alcoholic fatty liver disease, and cardiovascular disease: Three different diseases on a unique background. World J. Cardiol. 2016; 8 (2): 120-131. doi: 10.4330/wjc.v8.i2.120
6. Круглова Л.С., Бакулев А.Л., Коротаева Т.В. и др. Псориаз. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. [Kruglova L.S., Bakulev A.L., Korotaeva T.V., etc. Psoriasis. M.: GEOTAR-Media, 2022. (In Russ)]. ISBN 978-5-9704-7105-0
7. Masson W., Lobo M., Molinero G. Psoriasis and cardiovascular risk: a comprehensive review. Adv. Ther. 2020; 37 (5): 2017-2033. doi: 10.1007/s12325-020-01346-6
8. Favarato M.H., Mease P., Gonçalves C.R., et al. Hypertension and diabetes significantly enhance the risk of cardiovascular disease in patients with psoriatic arthritis. Clin. Exp. Rheumatol. 2014; 32:182-187. PMID: 24480317
9. Seremet S., Genc B., Tastan A., et al. Are all patients with psoriasis at increased risk for coronary artery disease? Int. J. Dermatol. 2015; 54 (3): 355-61. doi: 10.1111/ijd.12673
10. Staniak H.L., Bittencourt M.S., de Souza I.S., et al. Association between psoriasis and coronary calcium score. Atherosclerosis. 2014; 237 (2): 847-52. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.11.004
11. Gao N., Kong M., Li X., et al. The association between psoriasis and risk of cardiovascular disease: a mendelian randomization analysis. Front Immunol. 2022; 13: 918224. doi: 10.3389/fimmu.2022.918224
12. Zhang L., Wang Y., Qiu L., et al. Psoriasis and cardiovascular disease risk in European and East Asian populations: evidence from meta-analysis and Mendelian randomization analysis. BMC Med. 2022; 20: 421. doi: 10.1186/s12916-022-02617-5
13. Tizaoui K., Yang J. W., Lee K.H., et al. The role of YKL-40 in the pathogenesis of autoimmune diseases: a comprehensive review. Int. J. Biol. Sci. 2022; 18 (9): 3731-3746. doi: 10.7150/ijbs.67587
14. Khashaba S.A., Attwa E.V., Said N., et al. Serum YKL-40 and IL 17 in psoriasis: reliability as prognostic markers for disease severity and responsiveness to treatment. Dermatol. Ther. 2021; 34 (1): e14606. doi: 10.1111/dth.14606
15. Baran A., Myśliwiec H., Sztetling-Jaworowska M., et al. Serum YKL-40 as a potential biomarker of inflammation in psoriasis. The Journal of Dermatological Treatment. 2018; 29 (1): 19-23. doi: 10.1080/09546634.2017.1330529
16. El-Hamd M-A., El Taieb M-A., Mahmoud A-A., et al. Serum YKL-40 in patients with psoriasis vulgaris treated by narrow-band UVB phototherapy. The Journal of Dermatological Treatment. 2019; 30 (6): 545-548. doi: 10.1080/09546634.2018.1543848
17. Ahmed S.F., Attia E.A.S., Saad A.A., et al. Serum YKL-40 in psoriasis with and without arthritis; correlation with disease activity and high-resolution power Doppler ultrasonographic joint findings. JEADV. 2015; 29 (4): 682-8. doi: 10.1111/jdv.12653
18. Salomon J., Matusiak L., Nowicka-Suszeko D., et al. Chitinase-3-Like Protein 1 (YKL-40) Is a New Biomarker of Inflammation in Psoriasis. Mediators Inflamm. 2017; 2017: 9538451. doi: 10.1155/2017/9538451.PMID: 28932021

Поступила в редакцию журнала 05.09.23

Принята к печати 13.09.23

Для цитирования: Шевяков М.А., Тен М., Фролова Е.В., Митрофанов В.С., Берест Д.Г. Кандидоз пищевода у пациента с язвенным колитом на фоне иммунной дисфункции, ассоциированной с лечением озанимодом (клиническое наблюдение). 2023; 25 (3): 14-19.
DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-14-19

For citation: Shevyakov M.A., Ten M., Frolova E.V., Mitrofanov V.S., Berest D.G. Esophageal candidiasis in a patient with ulcerative colitis on the background of immune dysfunction associated with ozanimod treatment (clinical observation). 2023; 25 (3): 14-19. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-14-19

КАНДИДОЗ ПИЩЕВОДА У ПАЦИЕНТА С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ НА ФОНЕ ИММУННОЙ ДИСФУНКЦИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ЛЕЧЕНИЕМ ОЗАНИМОДОМ (КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ)

Шевяков М.А. (профессор кафедры)*, Тен М. (зав. лаб. кафедры), Фролова Е.В. (зав. лаб.), Митрофанов В.С. (зав. отделением), Берест Д.Г. (зав. отделением)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра клинической микологии, аллегологии и иммунологии; НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина), Санкт-Петербург, Россия

Представлено описание клинического случая пациента 43-х лет, страдающего язвенным колитом средней тяжести течения. Больной получал терапию основного заболевания согласно принятым стандартам лечения воспалительных заболеваний кишечника – месалазин и преднизолон в рекомендуемых дозировках. Однако терапия не привела к индукции ремиссии колита, и пациенту был назначен генно-инженерный биологический препарат озанимод в индукционном и поддерживающем режимах в суточной дозе 0,92 мг в сутки в течение одного года. Лечение озанимодом также не вызвало стойкой ремиссии колита, но осложнилось рецидивирующим кандидозом пищевода и развитием стойкой умеренной лейкопении.

Ключевые слова: озанимод, кандидоз пищевода, иммунная дисфункция, язвенный колит, *Candida*

ESOPHAGEAL CANDIDIASIS IN A PATIENT WITH ULCERATIVE COLITIS ON THE BACKGROUND OF IMMUNE DYSFUNCTION ASSOCIATED WITH OZANIMOD TREATMENT (CLINICAL OBSERVATION)

Shevyakov M.A. (professor of the department), Ten M. (head of the department's laboratory), Frolova E.V. (head of the laboratory), Mitrofanov V.S. (head of the clinical department), Berest D.G. (head of the clinical department)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology; Kashkin Research Institute of Medical Mycology), St. Petersburg, Russia

A 43-year-old patient with moderate-severe ulcerative colitis (ulcerative colitis) has been described. The patient received the therapy of the underlying disease according to the accepted standards of treatment of inflammatory bowel diseases – mesalazine and prednisolone at the recommended doses. However, treatment did not induce colitis remission, and the patient was prescribed the genetically engineered biological drug ozanimod in induction and maintenance regimens at a daily dose of 0,92 mg per day for one year. Treatment with ozanimod also did not induce sustained remission of colitis, but was complicated by recurrent esophageal candidiasis and persistent moderate leukopenia.

Key words: ozanimod, esophageal candidiasis, immune dysfunction, ulcerative colitis, *Candida*

ВВЕДЕНИЕ

Успехи иммуносупрессивной терапии воспалительных заболеваний кишечника сопровождались увеличением числа пациентов с оппортунистическими инфекциями. К сожалению, средства генно-инженерной биологической терапии (ГИБТ) также обладают определенным ятрогенным потенциалом в плане развития иммунной дисфункции и повышения риска оппортунистических инфекций [1].

* Контактное лицо: Шевяков Михаил Александрович, e-mail: shevyakov@inbox.ru

Озанимод – пероральный иммуносупрессант, средство группы ГИБТ, используемый в качестве индукционной и поддерживающей терапии язвенного колита средней или среднетяжелой степени тяжести, одобрен FDA в марте 2020 г.

Озанимод является ингибитором рецепторов сфингозин-1-фосфата и имеет высокую аффинность к сфингозин-1-фосфат рецепторам 1 и 5 (S1P1R) лимфоцитов, блокируя необходимые сигналы к их высвобождению из периферических лимфатических тканей, вызывая уменьшение их количества в циркулирующей крови. Под воздействием озанимода секвестрированные лимфоциты остаются в лимфатических тканях, предотвращается их попадание в места иммунопосредованного воспаления, в том числе толстую кишку. Последнее способствует уменьшению воспаления при язвенном колите [2].

ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

В мае 2023 г. 43-летний пациент поступил в микологическую клинику СЗГМУ им. И.И. Мечникова для лечения кандидоза пищевода. Предъявлял жалобы на эпизодические затруднения глотания и ощущения «кома в горле», редко – на наличие прожилок крови в стуле, а также периодические ложные позывы к дефекации.

Анамнез заболевания: считает себя больным с 2016 г. (около 7 лет), когда впервые отметил частые позывы к дефекации (до 8 раз в сутки), появление алой крови в кале. С вышеперечисленными жалобами обратился в поликлинику по месту работы (г. Санкт-Петербург). При фиброколоноскопии (ФКС), выполненной в 2017 г., обнаружены множественные эрозии прямой кишки и воспалительные изменения в сигмовидной кишке, при морфологическом исследовании биоптатов выявлен «хронический колит с разрастанием грануляционной ткани». Установлен диагноз: язвенный колит, впервые выявленный, среднетяжелое течение, левосторонне поражение. Назначена терапия: месалазин – 3 г/сут., преднизолон (дозировка не уточнена), а также топические ректальные глюкокортикостероиды. Лечение переносил удовлетворительно, на его фоне отмечал положительную динамику. Выписан с рекомендациями: месалазин – 2 г в сутки. В ближайший месяц у пациента был диагностирован рецидив язвенного колита, в связи с чем доза месалазина повышена до 2,5 г в сутки. Данной терапии больной придерживался до 2019 г., хотя до 3-х раз в год отмечал рецидивы, характерные для язвенного колита.

В 2019 г. пациенту рекомендовали лечение с применением средства ГИБТ – озанимод в рамках клинических исследований 3 фазы препарата. На фоне терапии озанимодом (92 мг в сутки) в индукционном и поддерживающем режимах наблюдал улучшение, особенно в первые 6 месяцев лечения.

Одновременно получал месалазин (2-2,5 мг в сутки). При ФКС от декабря 2019 г.: слизистая оболочка толстой кишки не изменена, гиперемия нижнеампулярного отдела прямой кишки, нестойкая ремиссия язвенного колита.

В ноябре 2020 г. на фоне продолжающейся терапии озанимодом отмечал выраженное обострение заболевания (диарея – до 5-6 раз в сутки с примесью крови, ложные позывы – 3 раза в день). В ноябре 2020 г. была выполнена ФКС: множественные эрозии селезеночного изгиба, нисходящего отдела толстой кишки и прямой кишки. Дополнительно к озанимоду был назначен 14-ти дневный курс метилпреднизолона в таблетках (40 мг/сут.), с клиническим улучшением, с отменой метилпреднизолона в феврале 2021 г., одновременно получал месалазин перорально (3 г в сутки). Также в 2020 г. у больного появились жалобы на значительную изжогу, отрыжку и дискомфорт в эпигастрии после еды. Проведено лечение ингибиторами протонной помпы (рабепразол – 20 мг/сут., 4 недели).

В июне 2021 г. при плановой ФКС выявлено характерное для колита поражение нижнеампулярного отдела прямой кишки (гиперемия, отек), пациент терапию не менял. При ФКС в сентябре 2021 г. зарегистрирована полная клинико-эндоскопическая ремиссия заболевания (больной продолжал получать озанимод и месалазин 3 г/сут. в таблетках).

В декабре 2021 г. выполнена плановая фиброгастроуденоскопия (ФГДС): эндоскопическая картина диффузного катарального гастрита, впервые выявлен кандидозный эзофагит 2 ст. Рекомендовано лечение капсулами флуконазола (150 мг) курсом 15 дней; эндоскопический и лабораторный контроль терапии кандидоза пищевода не проводили.

В январе 2022 г. ввиду прекращения клинических исследований препарата пациент перестал принимать озанимод. Поскольку клинически полную ремиссию больной не отмечал, к основной терапии месалазином в таблетках (3 г в сутки) были добавлены пробиотик, а также ректальные клизмы месалазина (2 г) дважды в день. Эти меры также не привели к ремиссии язвенного колита, и пациент принял решение лечиться самостоятельно лечебным голоданием в течение 7 дней. На 8-е сутки голодания наблюдал выраженное обострение основного заболевания и в дальнейшем вернулся к терапии месалазином в таблетках (4 г в сутки) и в виде клизм (4 г/60 мл) ежедневно, длительно.

При плановой ФГДС в поликлинике по месту работы в феврале 2023 г. вновь выявили признаки кандидоза пищевода. Также обнаружили эндоскопические признаки грыжи пищеводного отверстия диафрагмы и хронического гастрита с очаговой атрофией слизистой оболочки антрального отдела желудка. Пациенту вновь провели терапию перо-

ральным флуконазолом (150 мг в сутки, 2 недели) и рекомендовали госпитализацию в микологическую клинику СЗГМУ им. И.И. Мечникова для контрольного обследования и определения дальнейшей тактики ведения.

Результаты обследования в микологической клинике СЗГМУ им. И.И. Мечникова.

При ФГДС от 31.05.23 г.: грушевидные синусы – без особенностей. Пищевод: устье – на 15 см от резцов, интубируется без усилий. Пищевод свободно проходим. В просвете – без содержимого. Слизистая оболочка его бледно-розовая. Визуализируются единичные очаги гликогенного акантоза диаметром до 2 мм. Перистальтика прослеживается. Кардия смыкается не полностью. «Z» линия неравномерная, с очагами эпителизации до 2-3 мм и очагами гиперплазированного эпителия до 3 мм по боковым стенкам – при детальном осмотре определяется кардиальный тип эпителия, контактная ранимость отсутствует. «Z» линия расположена на 40 см от резцов, совпадает с зоной пищеводно-желудочного перехода (определена по палисаду сосудов и проксимальному краю желудочных складок), уровень ножек диафрагмы – на 41 см от резцов. При осмотре на инверсии складка Губарева не полностью обхватывает эндоскоп, угол Гиса выражен. Фибринозных белых наложений, характерных для кандидоза, не выявлено. Желудок: форма обычная. В просвете натошак – вспененная слизь; густая желчь с хлопьями в небольшом количестве – удалена через эндоскоп. Слизистая оболочка умеренно диффузно гиперемирована в антруме, желудочные поля отечны, ямки не расширены, без вязкой слизи и ранимости. Собирательные венулы визуализируются в дне и теле (RAC+). Типы эпителия соответствуют отделам. При детальном осмотре субкардиального отдела, дна и тела определяются очаги фовеолярной гиперплазии эпителия диаметром 1-2 мм; единичные полипы фундальных желез диаметром до 2 мм (FGP), не требующие удаления и наблюдения; очаги гиперплазии из ECL-клеток; в слизистой оболочке антрального отдела определяются очаги неметапластической атрофии (закрытый тип C1 по кл. Kimura-Takemoto), бледно-розовые очаги кишечной метаплазии (метапластической атрофии) размером 1-2 мм, эрозии размером 2-3 мм под фибрином гематином, точечные геморрагии и очаги эпителизации до 2-3 мм. При осмотре в узкоспектральном режиме NBI определяются признаки кишечной метаплазии: светло-голубые гребни LBC sign (light blue crests) и накопления липидных частиц (белесоватые полупрозрачные субстанции) WOS sign (white opaque substance). Складки расположены типично, расправляются при инсуффляции. Угол желудка формируется правильно. Перистальтика прослеживается. Привратник сомкнут, свободно проходим. Двенадцатиперстная кишка: луковица округлой

формы. Слизистая оболочка розовая, бархатистая. Постбульбарные отделы: слизистая оболочка розовая, бархатистая. В просвете определяется небольшое количество прозрачной желчи. Двенадцатиперстная кишка осмотрена до нижнегоризонтальной ветви. Продольная складка и БДС типичного вида. Выполнен осмотр в узкоспектральном режиме (NBI) с оптическим увеличением: нарушения рельефа нет. Заключение: эндоскопическая картина эрозивной антральной гастропатии; быстрый уреазный тест на *Helicobacter pylori* отрицательный.

Культуральное исследование биоптата пищевода на микромицеты от 02.06.23 г.: скудный рост бактериальной кокковой микробиоты и рост *Candida albicans* – 10² КОЕ. Микроскопическое исследование биоптата пищевода на микромицеты от 29.05.23 г.: эпителий пластами клеток в поле зрения, элементы микромицета не обнаружены, нейтрофилы – 0-2, бактериальная биота – кокковая скудная.

Микроскопия соскоба с языка: элементы микромицетов не выявлены. Посев тампона с зева – роста *Candida* нет.

Колоноскопия от 31.05.23 г.: перианальная область – без особенностей, без мацерации и гиперемии. При пальцевом исследовании: сфинктер ануса в тонусе, патологические образования не пальпируются. Эндоскоп при помощи ручного пособия проведен до терминального отдела подвздошной кишки на 15 см, слизистая оболочка которой розовая, бархатистая, в дистальном отделе визуализируются единичные лимфоидные фолликулы. Баугиниева заслонка губовидной формы, устье ее сомкнуто, ориентировано в купол слепой кишки. Просвет всех осмотренных отделов не деформирован, в нем содержится небольшое количество промывной жидкости, окрашенной желчью – аспирировано эндоскопом, фрагменты клетчатки. Сигмовидная кишка подвижна. Гаустрация типичная. Тонус сохранен. Сосудистый рисунок сохранен. Складки выражены, хорошо расправляются при инсуффляции. Слизистая оболочка слепой, восходящей ободочной, поперечно-ободочной, нисходящей ободочной, сигмовидной, прямой кишки розовая, блестящая. Спонтанная и контактная кровоточивость не определяется. При инверсионном осмотре: внутренние геморроидальные узлы не увеличены. Заключение: эндоскопическая картина без патологии; с учётом анамнеза – язвенный колит в состоянии ремиссии.

Ультразвуковое исследование брюшной полости от 29.05.23 г., заключение: диффузное незначительное увеличение печени; деформация желчного пузыря; изменения поджелудочной железы.

При исследовании крови на сахар, показатели липидного обмена, мочевую кислоту, общий билирубин, АСТ и АЛТ – без отклонений от нормы.

Исследование иммунного статуса от 30.05.23 г.: лейкоциты – $2,8 \times 10^9/\text{л}$ (норма – $4-9 \times 10^9/\text{л}$); Т-хелперы (CD3+CD4+): 34% (норма – 35-50%), $0,505 \times 10^9/\text{л}$ (норма – $0,580-1,300 \times 10^9/\text{л}$); NK (естественные киллеры) (CD3-CD56+): 5% (норма – 8-17%), $0,074 \times 10^9/\text{л}$ (норма – $0,120-0,370 \times 10^9/\text{л}$); ИРИ– 1,0 (норма – 1,5-2,6); коэффициент киллинга– 23% (норма – 25-45%); ИФНа-индуцированный – 82% (норма – 100-500%); ИФН γ -индуцированный – 686% (норма – 1000-5000%). Заключение: снижены показатели клеточного и врожденного иммунного ответа: снижено абсолютное число Т-хелперов, естественных киллеров, снижена продукция интерферона- α и интерферона- γ , снижена киллерная активность нейтрофилов; уровни иммуноглобулинов пределах возрастной нормы.

Пациент выписан с диагнозом: Язвенный колит, левостороннее поражение, хроническое рецидивирующее течение, ремиссия (индекс Мейо 0 баллов). Рецидивирующий кандидоз пищевода, ремиссия. Иммунная дисфункция по типу умеренной лейкопении с дефектами фагоцитоза, воспаления и цитотоксичности.

ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность и безопасность озанимода изучали согласно правилам надлежащей клинической практики. Так, в фазе 3 мультицентрового рандомизированного двойного исследования этот препарат был изучен в качестве средства индукционной и поддерживающей терапии у пациентов с умеренным или тяжелым активным язвенным колитом [1]. В первый индукционный период продолжительностью 10 недель больные получали озанимод в дозе 1 мг в сутки или плацебо. В первой когорте лечение назначали двойным слепым методом, во второй когорте – открытым методом. Через 10 недель пациенты с клиническим ответом на озанимод были рандомизированы в 52-недельное исследование (поддерживающая терапия). Больные получали или озанимод, или плацебо. В качестве первичной конечной точки рассматривали процент пациентов в клинической ремиссии, вторичных конечных точек – эндоскопическую и гистологическую ремиссию. В индукционную фазу исследования включили 645 пациентов, а в фазу поддерживающей терапии – 457. Частота наступления клинической ремиссии была достоверно выше в группах озанимода (в сравнении с плацебо) как в индукционную фазу (18,4% vs. 6,0%, $P < 0,001$), так и в поддерживающую фазу (37,0% vs. 18,5%, $P < 0,001$). Частота наступления гистологической и эндоскопической ремиссии также была выше на фоне терапии озанимодом. Таким образом, озанимод является препаратом ГИБТ с доказанной эффективностью в лечении язвенного колита. В то же

время при исследовании безопасности озанимода выявили риск серьезных нежелательных явлений, в частности гепатотоксичности. Для озанимода показан риск повышения уровня печеночных трансаминаз (АЛТ в 5 раз выше нормы). Установлено, что повышение большинства сывороточных трансаминаз носит временный характер и не требует прекращения терапии [3]. У большинства пациентов уровень АЛТ в сыворотке крови снижается в 3 раза со 2-4 недели от начала лечения озанимодом (фактором риска при этом признаны известные в анамнезе тяжелые заболевания печени) [4]. Также был отмечен повышенный риск инфекций: при приеме озанимода возможна обратимая лимфоцитопения. При этом у пациентов чаще наблюдали инфекции верхних дыхательных путей, реже – инфекции мочеполовой системы, а также вирусные инфекции, например herpes zoster. Немаловажно, что инфекции у больных, принимающих озанимод, могут быть жизнеугрожающими (например, криптококковый менингит, диссеминированная криптококкоз) [5]. Со стороны нервной системы у пациентов отмечали спутанность сознания, нарушения памяти, депрессию, изменения поведения, изменение мышечной силы, более выраженное на 1 стороне тела, чем на другой, затруднения речи или мышления, нарушения равновесия или зрения [6]. Спектр нежелательных явлений, выявленных при изучении безопасности озанимода, определил противопоказания к назначению: непереносимость озанимода или его компонентов; пациенты с высоким риском заражения оппортунистическими инфекциями, включая иммунокомпрометированных лиц, например, находящихся на терапии иммуносупрессорами или иммуномодулирующими препаратами, больные после пересадки костного мозга или лучевой терапии, а также с такими заболеваниями, как иммунный дефицит; тяжелые активные инфекции, включая активные хронические бактериальные, грибковые или вирусные инфекции, такие как гепатиты и туберкулез; известные в анамнезе активные онкологические заболевания (кроме базальноклеточной карциномы); беременность и женщины детородного возраста, не использующие эффективную контрацепцию [7].

В приведенном нами клиническом наблюдении показано, что длительное лечение озанимодом может осложниться развитием иммунной дисфункции с микотическим поражением пищевода. Наш пациент получал озанимод несколько месяцев, в основном в комбинации с месалазином – противовоспалительным препаратом преимущественно местного действия. Нельзя не обратить внимание на наличие у этого пациента признаков и факторов риска гастроэзофагеального рефлюкса, который может нарушить систему локальной антимикробной резистентности слизистой оболочки пищевода. Для терапии канди-

доза пищевода был примерен флуконазол в суточной дозе 150 мг, курсом 15 дней. Этот стандартно используемый способ лечения кандидоза пищевода, как правило, эффективен, однако если микотическое поражение вызвано азолорезистентным штаммом микромицетов, то возможен неуспех терапии.

Стойкая иммунная недостаточность чаще всего ассоциирована с рецидивирующим течением кандидоза [8-10]. В случае с нашим пациентом было зарегистрировано как минимум два эпизода кандидоза пищевода. Последнее диктует необходимость наблюдения за больными данной категории с регулярным выполнением эндоскопических исследований пищевода с получением материала слизистой оболочки для морфологических и микологических исследований [11, 12]. У нашего пациента выявление скудного роста *C. albicans* при посеве биоптата слизистой оболочки пищевода было расценено как микотическая контаминация, поскольку не наблюдали типичной эндоскопической картины заболевания (фибринозного эзофагита) и отсутствовал важнейший критерий диагностики кандидоза – псевдо-

мицелий *Candida* при морфологическом исследовании материала слизистой оболочки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Длительная терапия озанимодом может вызвать существенную лейкопению и нарушения иммунограммы. Одним из клинических проявлений этого варианта ятрогенной иммунной недостаточности может быть кандидоз пищевода [13]. В отношении пациентов, получающих препараты ГИБТ, нужно рекомендовать настороженность в плане возможных оппортунистических микотических инфекций. Больным с выявленным кандидозом пищевода необходимы контрольные ФГДС не реже 1-2 раз в год, а при выявлении рецидива кандидоза пищевода – назначение флуконазола перорально, из расчета суточной дозы не менее 3 мг флуконазола на один кг массы, продолжительностью не меньше 14 дней. При неуспехе терапии показано определение вида микромицета и его чувствительности к антимикотическим препаратам [14].

ЛИТЕРАТУРА

1. Sandborn W.J., Feagan B.G., Hanauer S., et al. Long-term efficacy and safety of ozanimod in moderate-to-severe ulcerative colitis: results from the open-label extension of the randomized, phase 2 touchstone study. *J. Crohns. Colitis*. 2021; jjab012. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab012
2. Scott F.L., Clemons B., Brooks J., et al. Ozanimod (RPC1063) is a potent sphingosine-1-phosphate receptor-1 (S1P1) and receptor-5 (S1P5) agonist with autoimmune disease-modifying activity. *Br. J. Pharmacol.* 2016; 173 (11): 1778-1792. doi:10.1111/bph.13476
3. Montalban X., Gold R., Thompson A.J., et al.ECTRIMS/EAN guideline on the pharmacological treatment of people with multiple sclerosis. *Eur. J. Neurol.* 2018; 25 (2): 215-237. doi:10.1111/ene.13536
4. *LiverTox*: Clinical and research information on drug-induced liver injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Ozanimod. 2012. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/>. Updated July 15, 2021.
5. Farez M.F., Correale J., Armstrong M.J., et al. Practice guideline update summary: vaccine-preventable infections and immunization in multiple sclerosis: report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2019; 93 (13): 584-594. doi:10.1212/WNL.00000000000008157
6. Rae-Grant A., Day G.S., Marrie R.A., et al. Practice guideline recommendations summary: disease-modifying therapies for adults with multiple sclerosis: report of the guideline development, dissemination, and implementation subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2018; 90 (17): 777-788. doi:10.1212/WNL.00000000000005347
7. Tran J.Q., Hartung J.P., Olson A.D., et al. Cardiac safety of ozanimod, a novel sphingosine-1-phosphate receptor modulator: results of a thorough QT/QTc study. *Clin. Pharmacol. Drug. Dev.* 2018; 7 (3): 263-276. doi:10.1002/cpdd.383
8. Шевяков М.А., Кулакова С.М., Снытко М.М. и др. Рецидивирующий кандидоз пищевода, резистентный к флуконазолу, осложненный стриктурой, у пациентки с идиопатической иммунной дисфункцией. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2023; (4): 152-157. [Shevyakov M.A., Kulakova S.M., Snytko M.M., et al. Recurrent esophageal candidiasis resistant to fluconazole, complicated by stricture, in a patient with idiopathic immune dysfunction. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023; (4):152-157. (In Russ.)]. doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-212-4-152-157
9. Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В. и др. Иммунопатогенез орофарингеального кандидоза у больных гемобластозами. *Проблемы медицинской микологии*. 2021; 23 (3): 38-45. [Danilova J.Y., Shabashova N.V., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in patients

with hemoblastosis. Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (3): 38-45. (in Russ)]. doi:10.24412/1999-6780-2021-3-38-45

10. Шабашова Н.В., Фролова Е.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е. Орофарингеальный кандидоз: этиология, факторы риска и иммунопатология развития у больных гемобластозами. Российский иммунологический журнал. 2019; 13 (4): 1549-1551. [Shabashova N.V., Frolova E.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E. Oropharyngeal candidiasis: etiology, risk factors and immunopathology of development in patients with hematological malignancies. Russian Journal of Immunology. 2019; 13 (4): 1549-1551. (In Russ)]. doi.org/10.31857/S102872210007086-9

11. Mahadevan U., Robinson C., Bernasko N., et al. Inflammatory bowel disease in pregnancy clinical care pathway: a report from the American Gastroenterological Association IBD parenthood project working group. Gastroenterology. 2019; 156 (5): 1508-1524. doi:10.1053/j.gastro.2018.12.022

12. Tan C.S., Korolnik I.J. Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis. Lancet Neurol. 2010; 9 (4): 425-437. doi:10.1016/S1474-4422(10)70040-5

13. Hatcher S.E., Waubant E., Nourbakhsh B., et al. Rebound syndrome in patients with multiple sclerosis after cessation of fingolimod treatment. JAMA Neurol. 2016; 73 (7): 790-794. doi:10.1001/jamaneurol.2016.0826

14. Авалуева Е.Б., Шевяков М.А., Ситкин С.И. и др. Клиника и микробиота кишечника у пациентов с болезнью Крона. Проблемы медицинской микологии. 2013; 15 (4): 40-44. [Avaluyeva E.V., Shevyakov M.A., Sitkin S.I., et al. Clinic and microbiota of intestine in patients with Crohn's disease. Problems in Medical Mycology. 2013; 15 (4): 40-44. (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 14.08.23

Принята к печати 24.08.23



Для цитирования: Хостелиди С.Н., Козлова О.П., Исмаилова С.С., Костылев А.А., Силков В.Б., Шурпицкая О.А., Игнатьева С.М., Тараскина А.Е., Борзова Ю.В., Васильева Н.В. Тяжелые грибковые инфекции, обусловленные *Paecilomyces* spp. (описание клинического случая и обзор литературы). 2023; 25 (3):20-26. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-20-26

For citation: Khostelidi S.N., Kozlova O.P., Ismailova S.S., Kostylev A.A., Silkov V.B., Shurpitskaya O.A., Ignatieva C.M., Taraskina A.E., Borzova Yu.V., Vasileva N.V. Severe fungal infections caused by *Paecilomyces* spp. (clinical case description and literature review). 2023; 25 (3): 20-26. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-20-26

ТЯЖЕЛЫЕ ГРИБКОВЫЕ ИНФЕКЦИИ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ *PAECILOMYCES* SPP. (ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹Хостелиди С.Н. (доцент)*, ¹Козлова О.П. (доцент), ²Исмаилова С.С. (врач-онколог), ²Костылев А.А. (врач-онколог), ²Силков В.Б. (врач-онколог, зав. отд.), ¹Шурпицкая О.А. (зав. лаб.), ¹Игнатьева С.М. (в.н.с.), ¹Тараскина А.Е. (зав. лаб.), ¹Борзова Ю.В. (зав. клиникой, доцент), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра клинической микологии, аллегологии и иммунологии; НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина); ²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

Paecilomyces variotii – условно-патогенные микромицеты, преимущественно вызывающие заболевания у иммунокомпрометированных больных. Наиболее часто развиваются поражения брюшины, легких, эндокардиты, кератиты, фунгемии, мицетомы и диссеминированные инфекции. Основными факторами риска считают иммунодефицитные состояния: онкогематологические заболевания, длительное пребывание в отделении реанимации и интенсивной терапии, перитонеальный диализ. Выживаемость больных пециломикозом зависит от клинической формы заболевания и составляет от 20 до 100%. В статье представлен клинический случай инвазивного микоза, обусловленного *Paecilomyces* spp. и *Aspergillus* spp., и анализ публикаций на сентябрь 2023 г.

Ключевые слова: *Paecilomyces*, *Paecilomyces variotii*, антимикотическая терапия, липосомальный амфотерицин В, микотическая пневмония, пециломикоз

SEVERE FUNGAL INFECTIONS CAUSED BY *PAECILOMYCES* SPP. (CLINICAL CASE DESCRIPTION AND LITERATURE REVIEW)

¹Khostelidi S.N. (associate professor), ¹Kozlova O.P. (associate professor), ²Ismailova S.S. (oncologist), ²Kostylev A.A. (oncologist), ²Silkov V.B. (oncologist, head of the clinical department), ¹Shurpitskaya O.A. (head of the laboratory), ¹Ignatieva C.M. (leading scientific researcher), ¹Taraskina A.E. (head of the laboratory), ¹Borzova Yu.V. (head of the clinic, associate professor), ¹Vasileva N.V. (director of the Institute, head of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Department of Clinical Mycology, Allergy and Immunology; Kashkin Research Institute of Medical Mycology); ²St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russia

Paecilomyces variotii – conditionally pathogenic micromycetes, mainly causing diseases in immunocompromised patients. Most often, lesions of the peritoneum, lungs, endocarditis, keratitis, fungemia, mycetomas and disseminated infections develop. Immunodeficiency conditions are considered the main risk factors: oncohematological diseases, prolonged stay in the intensive care unit, peritoneal dialysis. The survival rate of patients with peccilomycosis depends on the clinical form of the disease and ranges from 20 to 100%. The article presents a clinical case of invasive mycosis caused by *Paecilomyces* spp. and *Aspergillus* spp., and an analysis of publications for September 2023.

Key words: *Paecilomyces*, *Paecilomyces variotii*, antimycotic therapy, liposomal amphotericin B, mycotic pneumonia, peccilomycosis

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

ВВЕДЕНИЕ

Paecilomyces variotii – сапрофитный гиалогифомицет, вызывающий инфекцию у иммунокомпрометированных пациентов [1, 2]. Возбудители пециломикоза распространены повсеместно, наиболее часто они встречаются в почве и органических материалах, включая разлагающиеся растения, древесину и продукты питания [2].

Paecilomyces – род, включающий отдельные виды, которые в настоящее время реклассифицированы в род *Purpureocillium*, в том числе *Purpureocillium lilacinum* (ранее – *Paecilomyces lilacinus*). Эти микромицеты могут быть дифференцированы от *P. variotii* только с помощью MALDI-TOF спектрометрии (Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) (база данных Biotyper) или методами ДНК-секвенирования [3].

Пециломикоз относят к редким микозам, средняя частота его развития составляет 1 случай на 1000 000 населения [4].

В литературе описаны поражения легких [5, 6], эндокардиты [7], кератиты [8], перитониты [9], фунгемии [10], мицетомы [3] и диссеминированные инфекции [11], в единичных случаях – инфекции у иммунокомпетентных пациентов в случаях травмы или прямой ятрогенной имплантации возбудителя при использовании нестерильного инструментария [11, 12]. Микромицеты данного рода считаются природно полирезистентными микроорганизмами, хотя недавно представлен случай успешного применения триазолов нового поколения (позаконазола) для лечения пневмонии, вызванной *Paecilomyces* [3, 13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В статье представлен клинический случай микотической пневмонии, вызванной *P. variotii*, на фоне ВИЧ-инфекции (В 23), ст. 4Б.

Для постановки диагноза инвазивного микоза лёгких использовали клинические и лабораторные критерии, предлагаемые EORTC/ MSGERC, 2020 [14]. Проанализировали данные научной литературы, размещенные в базах PubMed и Wiley Interscience (на сентябрь 2023 г.). Поиск информации осуществляли с помощью следующих ключевых слов: *invasive fungal mycosis, pulmonary, Paecilomyces, Paecilomyces variotii*

Клинический случай.

Ребенок П., 2 года 7 месяцев, находится на онкогематологическом отделении ФГБОУ ВО СПбГМУ с 11.04.22 г. по настоящее время с диагнозом: Эмбриональная рабдомиосаркома правой челюстно-лицевой области с поражением околоушной слюнной железы, верхне-шейных, подчелюстных лимфоузлов справа, подмышечных лимфоузлов

с 2-х сторон, сТ3bN1M0. Группа F. Состояние после 9-ти курсов неоадьювантной полихимиотерапии (ПХТ), курса протонной терапии. Частичный ответ. Сопутствующий диагноз: ВИЧ-инфекция (В 23), ст. 4Б. Умеренная иммуносупрессия.

Из анамнеза известно, что ребенок от 3 беременности 3 родов на сроке 34 недели. Перинатальный контакт в родах с ВИЧ-инфекцией, вирусным гепатитом С. Мать ребенка – носитель ВИЧ-инфекции, вирусного гепатита С. Вес ребенка при рождении – 2130 г, рост – 43 см, оценка по шкале Апгар – 7/9 баллов.

В мае 2022 г. на основании клинико-лабораторных данных, гистологического заключения пациенту был установлен диагноз: Эмбриональная рабдомиосаркома правой челюстно-лицевой области с поражением околоушной слюнной железы, верхне-шейных, подчелюстных лимфоузлов справа, подмышечных лимфоузлов с 2-х сторон Т3bN1M0. Группа F. Принято решение о начале специфической противоопухолевой терапии в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению сарком мягких тканей у детей по протоколу CWS-guidance (2014 г.). В период с 17.05.22 г. по 06.01.23 г. больному проведено 9 курсов полихимиотерапии. С 12.01.23 г. по 20.02.23 г. выполнен курс протонной терапии. С марта 2023 г. начата метрономная поддерживающая противоопухолевая терапия препаратами циклофосфан (25 мг/м² тела в сутки) и винорелбин (25 мг/м² тела в сутки). Также пациент получает антиретровирусную терапию (абакавир, лопинавир + ритонавир, который с апреля 2023 г. был заменен на ралтегравир калия), антибактериальную терапию, профилактику пневмоцистной пневмонии (сульфаметоксазол + триметоприм), инфузионную терапию для коррекции электролитов, иммуно коррегирующую, гипотензивную, антиаритмическую терапии, частичное парентеральное питание. На период постцитостатической депрессии кроветворения – микафунгин (2 мг/кг в сутки). Ребенку был установлен центральный венозный катетер.

В мае 2023 г. после введения метрономной поддерживающей противоопухолевой терапии у пациента зафиксировали постцитостатическую депрессию кроветворения (агранулоцитоз, анемию средней тяжести). Отмечали появление кашля. 22.05.23 г. была выполнена компьютерная томография (КТ) органов грудной полости, на которой наблюдали частичные ателектазы верхних долей обоих легких с участками консолидации по ходу бронхо-сосудистых пучков и в паренхиме легких. Больному провели обследование: исключили туберкулезную инфекцию (диаскин-тест, реакция Манту). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) на туберкулез – отрицательная. Пациент об-

следован в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина. Исследование БАЛ на антиген *Aspergillus* spp. было положительным – индекс оптической плотности составил 1, ПЦР БАЛ на *Pneumocystis jirovecii* – отрицательным. При культуральном исследовании БАЛ на грибы роста микромицетов не обнаружено. На основании факторов риска, клинической картины, изменений на компьютерной томографии органов грудной полости и положительного теста на антиген *Aspergillus* spp. в БАЛ был диагностирован вероятный инвазивный аспергиллез легких. Начата терапия вориконазолом (18 мг/кг в сутки) с учетом лекарственных взаимодействий под контролем функции почек и печени. С учетом применения препарата вне инструкции по назначению лекарственных средств, вориконазол назначен через врачебную комиссию. Терапия алкалоидами барвинка была прекращена. На фоне проводимого антимикотического лечения состояние ребенка улучшилось, кашель купирован. На контрольной компьютерной томографии органов грудной полости (05.06.23 г.) отмечена положительная динамика формирования фиброзных изменений.

К концу июня 2023 г. состояние больного ухудшилось, появился кашель с отхождением вязкой мокроты. Состояние средней тяжести, температура тела – 36,6 °С, аппетит сохранен. Выявлено объемное образование лица справа, размерами 5*5 см, с распространением на область щеки, шеи, скуловую область, деформирующее лицо, при пальпации – мягко-тканное, но не вызывающее беспокойства. Кожные покровы бледно-розовые, с множественными очагами гиперпигментации. Периферические лимфатические узлы не увеличены. Грудная клетка правильной формы. Носовое дыхание свободное. В легких дыхание бронхиальное, проводные разнокалиберные хрипы с обеих сторон. Частота дыхательных движений (ЧДД) – 24 в мин. Сатурация – 98%, механика дыхания не нарушена. Тоны сердца отчетливые, ритм правильный. Частота сердечных сокращений (ЧСС) – 102 ударов в минуту, артериальное давление (АД) – 108/72 мм рт. ст. Живот при пальпации безболезненный, выслушивается перистальтика. Нижний край печени пальпируется ниже на 1 см из-под реберной дуги. Мочепускание свободное, ребенок не беспокоится.

На контрольной компьютерной томографии (29.06.23 г.) в верхних долях (больше справа) наблюдали зоны изменений по типу «матового стекла», утолщены междольковые перегородки (Рис.1).

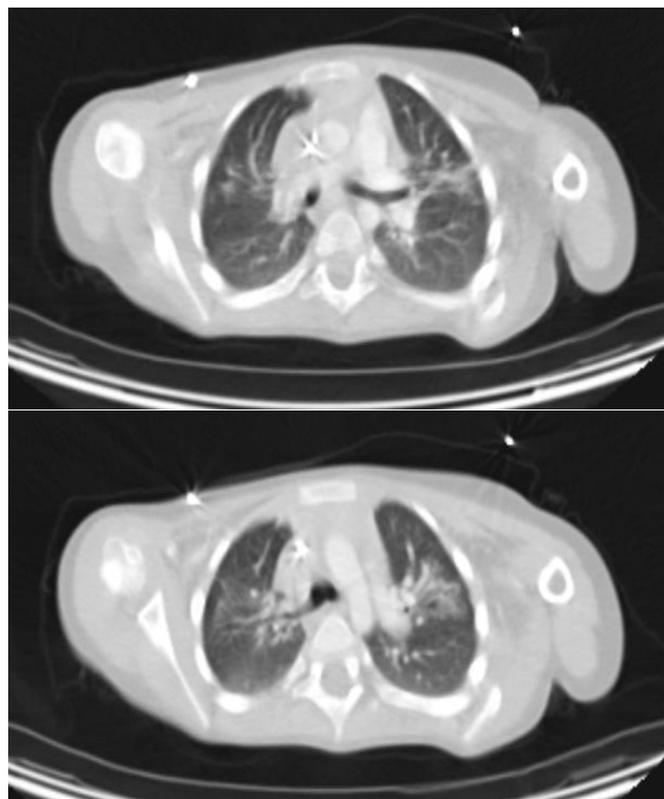


Рис. 1. Компьютерная томография легких. Изменения по типу матового стекла в верхних отделах легких.

Пациент обследован в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина. Исследования БАЛ на антиген *Aspergillus* spp. ($I=0,34$) и ПЦР БАЛ на *P. jirovecii* – отрицательные. При культуральном исследовании БАЛ на грибы (результат получен 10.07.23 г.) обнаружен рост *P. variotii*.

На основании факторов риска, клинической картины, изменений на компьютерной томографии органов грудной полости и положительного теста на антиген *Aspergillus* spp. в БАЛ (май 2023 г.) и выявлении при культуральном исследовании *P. variotii* (июнь 2023 г.) больному был установлен диагноз «сочетанный инвазивный микоз: вероятный инвазивный аспергиллез легких и пециломикоз легких». Антимикотическая терапия была скорректирована с 10.07.23 г., проведена замена на липосомальный амфотерицин В (5 мг/кг в сутки). При динамическом обследовании для контроля диссеминации грибковой инфекции пациенту выполняли многократные (3 раза в неделю) посевы крови на грибы из двух кубитальных вен в должном объеме, роста микромицетов не было. На контрольной компьютерной томографии от 20.07.23 г. наблюдали положительную динамику в виде снижения плотности и распространенности зон уплотнения в верхних долях легких с обеих сторон (Рис. 2). Противогрибковая терапия продолжена в прежнем объеме.

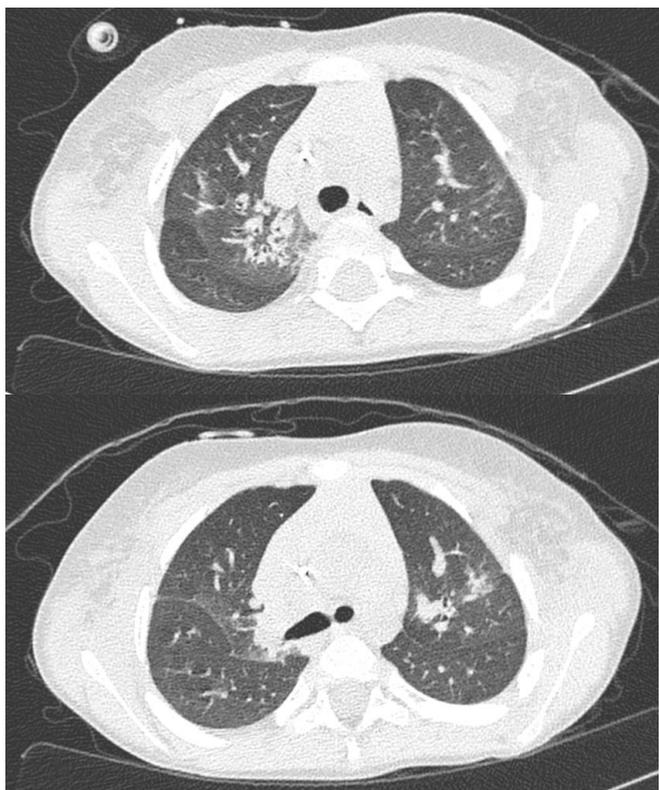


Рис. 2. Компьютерная томография легких. Уменьшение зон матового стекла.

На контрольной компьютерной томографии от 14.08.23 г. отмечена положительная динамика, но сохранялись участки уплотнения легочной ткани в S1 справа, S1-2 слева. В динамике – снижение плотности изменений в S1 справа. 16.08.23 г. пациенту проведена фибробронхоскопия. При культуральном исследовании БАЛ на грибы роста микромицетов не выявили. При исследовании БАЛ на антиген *Aspergillus* spp. результат был положительным (I-4,3).

По жизненным показаниям больному продолжена антимикотическая терапия. Выполнена коррекция лечения: вориконазол внутривенно 18 мг/кг 1-е в сутки, затем – 16 мг/кг в сутки, разделив на 2 приема с учетом лекарственных взаимодействий и под контролем функции печени и почек, также на период предположительной иммуносупрессии и терапии алкалоидами барвинка замена препарата на липосомальный амфотерицин В дозе 3 мг/кг. На контрольной компьютерной томографии от 18.09.23 наблюдали положительную динамику в виде формирования зон фиброза. Новых инфильтративных изменений не выявлено. До настоящего времени пациент продолжает прием антимикотических препаратов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Paecilomyces spp. – это нитчатые и термоустойчивые грибы, которые повсеместно встречаются в почве, в разлагающемся органическом материале, пищевых продуктах, домашней пыли [1, 2]. Они зачастую рассматривались как загрязнители при кли-

ническом выделении, но в последнее время все чаще признается, что они вызывают инвазивные инфекции, в первую очередь у лиц с ослабленным иммунитетом [3, 4]. Пециломикоз может развиваться и у иммунокомпетентных людей, как правило, после травмы [4].

Большинство этих инфекций вызвано *P. variotii*, *P. brunneolus*, *P. dactylethromorphus*, *P. divaricatus*, *P. formosus* и *P. variotii sensu stricto*. *P. variotii* – бесполое состояние рода *Byssochlamys spectabilis* [1, 2, 5]. До 2011 г. *P. variotii* и *P. lilacinus* считали наиболее распространенными возбудителями инфекции человека рода *Paecilomyces* [3, 4]. Однако в последнее десятилетие филогенетический анализ гена 18S рибосомной РНК показал, что эти виды не связаны между собой. *Paecilomyces* spp. принадлежат к семейству *Aspergillaceae* (порядок *Eurotiales*), близкому к *Aspergillus*, *Penicillium* и родственным родам, тогда как *P. lilacinus* был перенесен в новое семейство – *Ophiocordycipitaceae* (порядок *Hypocreales*) [15]. Для *P. lilacinus* было предложено новое название рода – *Purpureocillium* [15]. Имеющиеся данные о чувствительности *in vitro* свидетельствуют о значительных различиях в видозависимых диапазонах минимальной ингибирующей концентрации (МИК), при этом вориконазол демонстрирует в целом хорошую активность *in vitro*, а амфотерицин В имеет плохую активность против *P. lilacinum* [1, 16, 17]. Своевременная диагностика позволяет быстро и точно идентифицировать виды микромицетов, что является жизненно важным для пациента.

Существует вероятность ошибочной идентификации с другими грибковыми патогенами [1, 15, 16]. Знание филогенетических отношений и идентификация на уровне вида имеют решающее значение для того, чтобы сделать выводы о чувствительности микроорганизма и определить тактику ведения больного. Кроме того, морфология других грибов, таких как *Hamigera* spp. или *Rasamsonia* spp., достаточно сложна для идентификации традиционными микологическими методами [1, 18, 19], но возможна с помощью анализа рибосомных последовательностей малых субъединиц или протеомного профилирования с помощью матричной лазерной десорбционно-ионизационной масс-спектрометрии [1, 3, 18].

P. variotii способны поражать различные системы органов и вызывать инфекции кровотока, инфекции центральной нервной системы (ЦНС), остеомиелит, перитонит, пневмонию, инфекции кожи и мягких тканей и другие [6-12, 17, 19-25]. Кроме того, *P. variotii* может быть причиной угрожающего зрению эндофтальмита [26]. Симптомы этой инфекции неспецифичны и могут быть трудноотличимы от других грибковых инфекций [3]. Согласно наиболее полному обзору случаев пециломикоза, проведенного группой FungiScope Европейского сообщества

медицинских микологов (ЕСММ) с 1967 г. по 2020 г., зарегистрировано в реестре и опубликовано 59 случаев инфекций, вызванных *Paecilomyces* spp.: n=9 (15,3%) и n=49 (83,1%) соответственно [27].

Случаи заболевания были выявлены в 22 странах мира с наибольшим числом в Соединенных Штатах (25,4%), Австралии (8,5%), Индии (8,5%), Китае (6,8%), Турции (6,8%). Все инфекции были вызваны *P. variotii*. Отмечено несколько случаев микст-инфекции с грибами рода *Aspergillus* [4, 27]. В настоящее время в регистре редких микотических инфекций, который ведется на базе кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова, зафиксировано 7 случаев инвазивного пециломикоза [28].

Основные факторы риска развития инфекции – инвазивные устройства (49,2%), при этом 33,9% составляют перитонеальные катетеры и 10,2% – протезы клапанов сердца. Частыми фоновыми состояниями являются гематологические и онкологические заболевания – до 32,2%, предшествующие хирургические вмешательства – 18,6%, сахарный диабет – 16,9% [4, 27].

Преимущественно в современных публикациях описаны микотические перитониты, вызванные *Paecilomyces* spp. (33,3%), и пневмонии (27,1%). Другими частыми очагами поражения были глубокие мягкие ткани (11,9%) и клапанный аппарат (10,2%). Фунгемию отмечали у 10,2% пациентов, диссеминацию – у 23,7% [4, 27, 29, 30, 31]. Наиболее часто у больных наблюдали лихорадку (55,9%), локальные боли (59,3%), одышку (23,7%), диспепсические симптомы (18,6%) и кашель (16,9%) [4, 27].

Для уточнения локализации первичного очага пециломикоза и выявления/исключения возможных очагов локализации применяют КТ и МРТ диагностику. Преимущественно выполняют КТ грудной клетки (16,9%) и рентгенограмму грудной клетки (8,5%), КТ околоносовых пазух (6,8%) и эхокардиографию (6,8%). На КТ грудной клетки чаще всего визуализировали узловые инфильтраты и симптом «матового стекла».

Критерии постановки диагноза «пециломикоз» предполагают обязательное обнаружение *Paecilomyces* spp. в культуре в стерильных в норме биосубстратах. Так, в исследовании «FungiScore» *P. variotii* были выделены в культуре из стерильных в норме биосубстратов у 98,3% пациентов [4, 27, 29].

Выявление возбудителя в культуре необходимо и для определения чувствительности микромицетов к антимикотикам. Известно, что амфотерицин В демонстрирует в целом хорошую активность *in vitro* против *P. variotii*, однако несколько отличные результаты были получены при использовании методов микроразведения CLSI [15, 16]. Итраконазол и позаконазол проявляли хорошую активность *in vitro*

любым из применяемых методов. То же самое наблюдали и для флуцитозина. Высокие МИК были показаны для каспофунгина и вориконазола, особенно при оценке с помощью метода микроразведения Etest и EUCAST [4, 27]. Тестирование на чувствительность к изавуконазолу не проводили.

Согласно публикациям, наиболее часто для лечения пециломикоза используют амфотерицин В (до 75,0%), смертность в этой группе больных составляет 28,2%. Триазолы применяли у 59,6% пациентов, смертность – 22,6%. Эхинокандины назначают редко, чаще всего – в комбинации с другими препаратами (до 9,6%). Флуцитозин, флуконазол или итраконазол использовали только у 5,8% больных. Средняя продолжительность системной противогрибковой терапии составляет 35 дней (от 18 до 91 дня) [4, 27].

Эффективным методом лечения считают хирургические вмешательства. Среди описанных случаев применение хирургических операций было связано с хорошим прогнозом для пациента и выживаемостью у 80,0%. При этом, согласно современным рекомендациям, обязательным условием терапии является удаление сосудистых или внутрибрюшинных катетеров, что и было выполнено всем наблюдаемым больным, смертность в этой группе – 16% [4, 27].

Общая смертность от всех причин составляет от 28,8% (при поражении кожи, подкожной клетчатки и костей) до 100% (при поражении ЦНС, фунгеми и эндокардите). Средняя продолжительность жизни у этой категории пациентов – 42 дня после постановки диагноза (от 13 до 91 дня) [4,27].

Активность антимикотических препаратов *in vitro* трудно коррелировать с эффективной клинической концентрацией при инфекциях *Paecilomyces* spp. Клинически значимые значения не установлены, и восприимчивость в значительной степени экстраполируется из значений МИК и показателей чувствительности родственных грибов [3, 4].

Так, по опубликованным данным, выявлен достаточно низкий уровень амфотерицина В МИК [1, 3, 4]. В то же время следует иметь в виду, что амфотерицин В использовали преимущественно у тяжелых больных в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии.

Итраконазол и позаконазол обладают хорошей активностью *in vitro* против изолятов *P. variotii*. В исследовании «FungiScore» смертность была аналогичной общей группе пациентов, однако число лиц, получавших позаконазол, было недостаточным для получения достоверных результатов. И, наоборот, высокие значения минимальной подавляющей концентрации вориконазола свидетельствуют о низкой клинической эффективности [1, 3, 4]. Тем не менее, успешное лечение вориконазолом у больных было достигнуто среди описанных клинических случаев.

Данные о чувствительности к новым противогрибковым препаратам, таким как изавуконазол, скудны, и на сегодняшний день не сообщалось о терапии пециломикоза этим лекарственным средством. Показано, что новый перорально доступный ингибитор β -глюкансинтазы (ibrexafungerp – ибрексафунгерп) обладает высокой активностью в отношении *P. variotii in vitro* [1, 3, 4]. В настоящее время он оценивается в ходе клинических испытаний, и могут быть предложены новые варианты лечения в будущем.

Таким образом, невозможно сделать однозначные выводы о наиболее эффективных антимикотических препаратах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Paecilomyces spp. являются редкими грибковыми патогенами, представляющими угрозу для пациентов с наследственным или приобретенным иммунодефицитом. Фоновыми состояниями являются перитонеальный диализ и наличие у пациента инвазивных устройств.

Высокая вирулентность и низкая чувствительность возбудителей требуют быстрой идентификации патогенов на уровне вида. При проведении диагностических тестов важны культуральные и молекулярные методы, позволяющие идентифицировать возбудителя в короткие сроки. Лечение затруднено из-за резистентности к противогрибковым препаратам и отсутствия данных об их клинической эффективности в двойных слепых плацебоконтролируемых исследованиях. Эта дилемма ясно отражается в высоких показателях смертности. Амфотерицин В, итраконазол и позаконазол демонстрируют наиболее благоприятные модели чувствительности *in vitro* и могут представлять собой наилучшие варианты лечения. Это согласуется с современными клиническими рекомендациями Европейской конфедерации медицинской микологии (ЕСММ), но нуждается в подтверждении в более крупной и однородной когорте. Таким образом, для расширения знаний о новых прорывных микотических инфекциях необходимо создание национальных регистров, особенно по редким патогенам.

ЛИТЕРАТУРА

(с учетом редкости публикации клинических случаев инвазивного пециломикоза приведены архивные ссылки)

1. Houbraken J., Verweij P.E., Rijs A.J., et al. Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. J. Clin. Microbiol. 2010; 48: 2754-61. doi.org/10.1128/JCM.00764-10
2. Urquhart A.S., Mondo S.J., Mäkelä M.R., et al. Genomic and genetic insights into a cosmopolitan fungus, *Paecilomyces variotii* (Eurotiales). Front. Microbiol. 2018; 9: 3058. doi.org/10.3389/fmicb.2018.03058
3. Marques D.P., Carvalho J., Rocha S., Domingos R. A case of pulmonary mycetoma caused by *Paecilomyces variotii*. Eur. J. Case Rep. Intern. Med. 2019; 6. doi:10.12890/2019_001040
4. Chen S.C., Perfect J., Colombo A.L., et al. Global guideline for the diagnosis and management of rare yeast infections: an initiative of the ECMM in cooperation with ISHAM and ASM. Lancet Infect. Dis. 2021; 21 (12): e375-e386. doi: 10.1016/S1473-3099(21)00203-6
5. Monpierre L., Ait-Ammar N., Valsecchi I., et al. Species identification and in vitro antifungal susceptibility of *Paecilomyces/Purpureocillium* species isolated from clinical respiratory samples: a multicenter study. J. Fungi (Basel). 2022; 8:684. doi.org/10.3390/jof8070684
6. Steiner B., Aquino V.R., Paz A.A., et al. *Paecilomyces variotii* as an emergent pathogenic agent of pneumonia. Case Rep. Infect. Dis. 2013; 2013: 273848. doi.org/10.1155/2013/273848
7. McClellan J.R., Hamilton J.D., Alexander J.A., et al. *Paecilomyces variotii* endocarditis on a prosthetic aortic valve. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1976; 71: 472-5. doi.org/10.1016/S0022-5223(19)40222-5
8. Thomas P.A., Kalliamurthy J. Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management. Clin. Microbiol. Infect. 2013; 19: 210-20. doi.org/10.1111/1469-0691.12126
9. Uzunoglu E., Sahin A.M. *Paecilomyces variotii* peritonitis in a patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis. J. Mycol. Med. 2017; 27: 277-80. doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.02.001
10. Salle V., Lecuyer E., Chouaki T., et al. *Paecilomyces variotii* fungemia in a patient with multiple myeloma: case report and literature review. J. Infect. 2005; 51:e93-5. doi.org/10.1016/j.jinf.2004.09.006
11. Lazarus J.E., Branda J.A., Gandhi R.G., et al. Disseminated intravascular infection caused by *Paecilomyces variotii*: case report and review of the literature. Open Forum. Infect. Dis. 2020; 7: ofaa166. doi.org/10.1093/ofid/ofaa166
12. Gutierrez F., Masia M., Ramos J. et al. Pulmonary mycetoma caused by an atypical isolate of *Paecilomyces* species in an immunocompetent individual: case report and literature review of *Paecilomyces* lung infections. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2005; 24: 607-11. doi.org/10.1007/s10096-005-0013-y
13. Li Y., Theuretzbacher U., Clancy C.J., et al. Pharmacokinetic/ pharmacodynamic profile of posaconazole. Clin. Pharmacokinet. 2010; 49: 379-96. doi.org/10.2165/11319340-000000000-00000

14. 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: 1367-76. doi.org/10.1093/cid/ciz1008
15. Luangsa-Ard J., Houbraken J., van Doorn T., et al. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. FEMS Microbiol. Lett, 2011; 321: 141-9. doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x
16. Castelli M.V., Alastruey-Izquierdo A., Cuesta I., et al. Susceptibility testing and molecular classification of *Paecilomyces* spp. Antimicrob. Agents Chemother. 2008; 52: 2926-8. doi.org/10.1128/AAC.00538-08
17. Bellanger A.P., Cervoni J.P., Faucher J.F., et al. *Paecilomyces variotii* fungemia in a patient with lymphoma needing liver transplant. Mycopathologia. 2017; 182: 761-5. doi.org/10.1007/s11046-017-0131-y
18. Barker A.P., Horan J.L., Slechta E.S., et al. Complexities associated with the molecular and proteomic identification of *Paecilomyces* species in the clinical mycology laboratory. Med. Mycol. 2014; 52: 537-545. doi.org/10.1093/mmy/myu001
19. Stemler J., Salmanton-García J., Seidel D., et al. Risk factors and mortality in invasive *Rasamsonia* spp. infection: analysis of cases in the FungiScope® registry and from the literature. Mycoses 2020; 63: 265-74. doi.org/10.1111/myc.13039
20. Torres R., Gonzalez M., Sanhueza M., et al. Outbreak of *Paecilomyces variotii* peritonitis in peritoneal dialysis patients after the 2010 Chilean earthquake. Perit. Dial. Int. 2014; 34: 322-5. doi.org/10.3747/pdi.2013.00157
21. Tarkkanen A., Raivio V., Anttila V.-J., et al. Fungal endophthalmitis caused by *Paecilomyces variotii* following cataract surgery: a presumed operating room air-conditioning system contamination. Acta Ophthalmol. Scand. 2004; 82: 232-5. doi.org/10.1111/j.1600-0420.2004.00235.x
22. Lee J., Yew W.W., Chiu C.S.W., et al. Delayed sternotomy wound infection due to *Paecilomyces variotii* in a lung transplant recipient. J. Heart Lung Transplant. 2002; 21: 1131-4. doi.org/10.1016/S1053-2498(02)00404-7
23. Eren D., Eroglu E., Ulu Kilic A., et al. Cutaneous ulcerations caused by *Paecilomyces variotii* in a renal transplant recipient. Transpl. Infect. Dis 2018; 20: e12871. doi.org/10.1111/tid.12871
24. Cohen-Abbo A., Edwards K.M. Multifocal osteomyelitis caused by *Paecilomyces variotii* in a patient with chronic granulomatous disease. Infection 1995; 23: 55-7. doi.org/10.1007/BF01710060
25. Salmanton-García J., Koehler P., Kindo A., et al. Needles in a haystack: extremely rare invasive fungal infections reported in FungiScope® - Global Registry for Emerging Fungal Infections. 2020; 81 (5): 802-815. doi: 10.1016/j.jinf.2020.08.015
26. Lam D.S.C., Koehler A.P., Fan D.S.P., et al. Endogenous fungal endophthalmitis caused by *Paecilomyces variotii*. Eye 1999; 13: 113-6. doi.org/10.1038/eye.1999.23
27. Sprute R., Salmanton-García J., Sal E., et al. Characterization and outcome of invasive infections due to *Paecilomyces variotii*: analysis of patients from the FungiScope® registry and literature reports. J. Antimicrob. Chemother. 2021; 76 (3): 765-774. doi: 10.1093/jac/dkaa481
28. Хостелиди С.Н., Шадривова О.В., Богомолова Т.С. и др. Диагностика и лечение инвазивных микозов, обусловленных редкими плесневыми микромицетами: результаты проспективного исследования. Проблемы медицинской микологии. 2023; 25 (2): 193. [Khostelidi S.N., Shadriviva O.V., Bogomolova T.S., et al. Diagnosis and treatment of invasive mycoses caused by rare mold micromycetes: results of a prospective study. Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (2): 193. (In Russ)].
29. Prasad N., Gupta A. Fungal peritonitis in peritoneal dialysis patients. Perit. Dial. Int. 2005; 25: 207-22. doi.org/10.1177/089686080502500302
30. Nguyen M.H., Muder R.R. *Aspergillus* peritonitis in a continuous ambulatory peritoneal dialysis patient. Case report and review of the literature. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 1994; 20: 99-103. doi.org/10.1016/0732-8893(94)90099-X
31. Goldie S.J., Kiernan-Tridle L., Torres C., et al. Fungal peritonitis in a large chronic peritoneal dialysis population: a report of 55 episodes. Am. J. Kidney Dis. 1996; 28: 86-91. doi.org/10.1016/S0272-6386(96)90135-3

Поступила в редакцию журнала 22.09.23

Принята к печати 26.09.23



Для цитирования: Фролова Е.В., Шадривова О.В., Хостелиди С.Н., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Богомолова Т.С., Игнатьева С.М., Соловьева Г.И., Аак О.В., Десятник Е.А., Тен М., Борзова Ю.В., Тараскина А.Е., Васильева Н.В. Прогностическое значение показателей субпопуляционного состава лимфоцитов крови гематологических пациентов с инвазивным аспергиллезом легких, получающих полихимиотерапию. 2023; 25 (3): 27-36. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-27-36

For citation: Frolova E.V., Shadrivova O.V., Khostelidi S.N., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Bogomolova T.S., Ignatieva S.M., Solovyova G.I., Aak O.V., Desyatnik E.A., Ten M., Borzova Yu.V., Taraskina A.E., Vasilyeva N.V. Prognostic value of indicators of the subpopulation composition of blood lymphocytes of hematological patients with invasive pulmonary aspergillosis receiving polychemotherapy. 2023; 25 (3): 27-36. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-27-36

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ С ИНВАЗИВНЫМ АСПЕРГИЛЛЕЗОМ ЛЕГКИХ, ПОЛУЧАЮЩИХ ПОЛИХИМИОТЕРАПИЮ

Фролова Е.В. (зав. лаб.)*, Шадривова О.В. (доцент), Хостелиди С.Н. (доцент), Филиппова Л.В. (с.н.с., доцент), Учеваткина А.Е. (с.н.с.), Богомолова Т.С. (зав. лаб.), Игнатьева С.М. (в.н.с.), Соловьева Г.И. (в.н.с.), Аак О.В. (в.н.с.), Десятник Е.А. (врач-миколог), Тен М. (зав. лаб. кафедры), Борзова Ю.В. (зав. клиникой, доцент), Тараскина А.Е. (зав. лаб.), Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра клинической микологии, аллегологии и иммунологии; НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина), Санкт-Петербург, Россия

Инвазивный аспергиллез легких (ИАЛ) остается одной из ведущих причин заболеваемости и смертности у гематологических пациентов, получающих полихимиотерапию (ПХТ). На сегодняшний день существует потребность в поиске новых иммунологических маркеров для своевременной диагностики инвазивных плесневых инфекций и мониторинга эффективности лечения. Цель этого проспективного исследования состояла в определении прогностического значения показателей субпопуляционного состава лимфоцитов крови больных ИАЛ в исходе инфекционного заболевания для поиска критериев определения длительности противогрибковой терапии.

В исследование включили 22 больных «вероятным» инвазивным аспергиллезом легких и 20 пациентов, у которых ИАЛ был исключен в ходе обследования. Контрольная группа состояла из 25 практически здоровых людей. Период наблюдения составил 6 месяцев. Проведено изучение субпопуляционного состава лимфоцитов и определение уровней иммуноглобулинов.

У всех больных ИАЛ установлено достоверное снижение абсолютного количества $CD4^+$ Т-хелперов на фоне повышения относительного числа $CD4^+CD25^+CD127^+$ активированных Т-хелперов по отношению к показателям группы сравнения. Особенностью пациентов с неблагоприятным исходом ИАЛ было значимое снижение относительного и абсолютного числа НК-клеток, экспрессирующих α -цепь $CD8$ ($CD3-CD8^+$), по отношению к показателям группы сравнения. Отличием больных ИАЛ с благоприятным течением инфекционного процесса от пациентов с неблагоприятным исходом являлась положительная динамика абсолютного числа $CD4^+$ Т-хелперов, цитотоксических $CD8^+$ Т-лимфоцитов, НКТ-клеток. Важная роль $CD3^+CD8^+$ НК-клеток в клиническом исходе грибковой инфекции подтверждается положительной корреляционной связью их числа с количеством $CD4^+$ Т-клеток, цитотоксических $CD8^+$ Т-клеток и $CD3^+CD56^+$ НК-клеток.

Установлено, что низкое абсолютное число $CD3^+CD8^+$ НК-клеток является прогностическим фактором, связанным с неблагоприятным клиническим исходом ИАЛ.

Ключевые слова: инвазивный аспергиллез легких, гематологические пациенты, естественные киллеры, прогностические факторы

PROGNOSTIC VALUE OF INDICATORS OF THE SUBPOPULATION COMPOSITION OF BLOOD LYMPHOCYTES OF HEMATOLOGICAL PATIENTS WITH INVASIVE PULMONARY ASPERGILLOSIS RECEIVING POLYCHEMOTHERAPY

Frolova E.V. (head of the laboratory), Shadrivova O.V. (associate professor), Khostelidi S.N. (associate professor), Filippova L.V. (senior scientific researcher, associate professor), Uchevatkina A.E. (senior scientific researcher), Bogomolova T.S. (head of the laboratory), Ignatieva S.M. (leading scientific researcher), Solovyova G.I. (leading scientific researcher), Aak O.V. (leading scientific researcher), Desyatnik E.A. (physician-mycologist), Ten M. (head of the department's laboratory), Borzova Yu.V. (head of the clinic, associate professor), Taraskina A.E. (head of the laboratory), Vasilyeva N.V. (director of the Institute, head of the department)

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

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology); Kashkin Research Institute of Medical Mycology, St. Petersburg, Russia

Invasive pulmonary aspergillosis (IPA) remains one of the leading causes of morbidity and mortality in hematological patients receiving polychemotherapy (PCT). To date, there is a need to search the new immunological markers for the timely diagnosis of invasive mold infections and monitoring the effectiveness of treatment. The purpose of this prospective study was to determine the prognostic value of indicators of the subpopulation composition of blood lymphocytes of patients with IPA in the outcome of an infectious disease to find criteria for determining the duration of antifungal therapy.

The study included 22 patients with "probable" invasive pulmonary aspergillosis and 20 patients in whom IPA was excluded during the examination. The control group consisted of 25 practically healthy people. The follow-up period was 6 months. The study of the subpopulation composition of lymphocytes and determination of immunoglobulin levels was carried out.

In all patients with IPA, a significant decrease in the absolute number of CD4+T-helpers was found against the background of an increase in the relative number of CD4+CD25+CD127+ activated T-helpers in relation to the indicators of the comparison group. A feature of patients with an unfavorable outcome of IPA was a significant decrease in the relative and absolute number of NK cells expressing the α -chain of the CD8 antigen (CD3-CD8+) in relation to the indicators of the comparison group. The difference between patients with IPA with a favorable course of the infectious process from patients with an unfavorable outcome was the positive dynamics of the absolute number of CD4+T-helpers, cytotoxic CD8+T-lymphocytes, NKT cells. The important role of CD3-CD8+NK cells in the clinical outcome of fungal infection is confirmed by a positive correlation between their number and the number of CD4+T cells, cytotoxic CD8+T cells and CD3-CD56+NK cells.

It was found that a low absolute number of CD3-CD8+NK cells is a prognostic factor associated with an unfavorable clinical outcome of IPA.

Key words: invasive pulmonary aspergillosis, hematological patients, natural killers, prognostic factors

ВВЕДЕНИЕ

Особенностью грибов рода *Aspergillus* является небольшой размер конидий и способность существовать при температуре человеческого тела (термотолерантность), что позволяет микромицетам проникать в нижние отделы дыхательных путей и длительно сохраняться при температуре тела человека [1]. Инвазивный аспергиллез легких (ИАЛ) возникает у лиц с тяжелым иммунодефицитом, включая пациентов со злокачественными новообразованиями, реципиентов трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) и солидных органов, с нейтропенией или получающих химиотерапию и/или кортикостероиды [2]. В последнее время ИАЛ все чаще описывают у больных в критическом состоянии, находящихся в отделениях интенсивной

терапии с вирусным острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС) [3, 4]. Учитывая существующие трудности в диагностике, а также появление лекарственной устойчивости *Aspergillus* spp. и связанной с этими факторами высокой смертности от ИАЛ (30-68%), Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) внесла *A. fumigatus* в список приоритетных грибковых патогенов, причислив к группе критически важных для здравоохранения возбудителей [5]. Однако эффективность противогрибковой профилактики и терапии у пациентов групп высокого риска развития ИАЛ может быть значительно снижена вследствие нарушений иммунитета, возникновения резистентных штаммов микромицетов, а также токсичности и высокой стоимости противогрибковых препаратов [6]. В то же время нерациональная профилактика и терапия, проводимая без верификации диагноза, могут привести к осложнениям, связанным с токсичностью препаратов или лекарственным взаимодействиями, и неоправданным дополнительным медицинским расходам [7]. В настоящее время крайне актуальным является выявление иммунологических суррогатных маркеров как для своевременного выявления грибкового поражения, так и для определения тактики лечения [8].

Считается, что CD4⁺T-хелперы являются критически важными клетками, участвующими в противогрибковом иммунитете. Tbet⁺T-хелперы 1-го типа (Th1) мигрируют в легкие и продуцируют цитокины, прежде всего IFN- γ , которые активируют противогрибковую активность макрофагов и нейтрофилов. ROR γ ⁺T-хелперы 17 борются с грибами, секретировав IL-17, за счет привлечения нейтрофилов в очаг инфекции [1]. В соответствии с современными представлениями, Th1 и Th17 обеспечивают защиту против *Aspergillus* spp., тогда как Th2 оказывают негативное влияние на формирование специфического иммунного ответа [9]. Помимо классических лимфоцитов, естественные клетки-киллеры (НК-клетки) также способны участвовать в защите от грибковой инфекции [10], демонстрируя способность непосредственно уничтожать грибы рода *Aspergillus* [11]. НК-клетки традиционно рассматриваются как врожденные иммунные клетки, составляющие первую линию защиты от злокачественных клеток и вирусов [12]. В периферической крови человека были описаны различные субпопуляции НК-клеток. Примерно 30% НК-клеток периферической крови экспрессируют гомодимер CD8 α . Addison E.G. и соавторами показано, что эти клетки демонстрируют лучшую выживаемость при уничтожении клеток-мишеней [13]. В недавнем экспериментальном исследовании установлено, что связывание β -глюкана клеточной стенки *A. fumigatus* с паттерн-распознающим рецептором Dectin-1 запускает синтез IL-15 – ростового фактора НК-клеток и обеспечивает защиту от грибковой инфекции [14]. Однако существует ограни-

ченное число клинических данных, подтверждающих важную роль НК-клеток в защите от аспергиллезной инфекции. В основном эти исследования были сосредоточены на гематологических больных после аллогенной ТГСК и пациентах, перенесших трансплантацию почки или печени [15, 16].

Эти исследования необходимы, так как в настоящее время, наряду с совершенствованием антифунгальной терапии, большое внимание уделяется изучению подходов к восстановлению иммунной системы человека для успешной борьбы с инвазивными грибковыми инфекциями. Для решения данной проблемы следует идентифицировать конкретные нарушения иммунной системы, ответственные за элиминацию возбудителя. Также обращается особое внимание на то, что для эффективного уничтожения микроорганизмов неконтролируемая воспалительная реакция может быть так же вредна, как и состояние иммуносупрессии [17]. Однако до сих пор детально не исследована динамика восстановления иммунологических показателей у гематологических пациентов, получающих полихимиотерапию.

Цель этого проспективного исследования состояла в определении прогностического значения показателей субпопуляционного состава лимфоцитов крови больных ИАЛ в исходе инфекционного заболевания для поиска критериев определения длительности противогрибковой терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили взрослых гематологических пациентов. Основную группу составили 22 больных ИАЛ. В группу сравнения вошли 20 человек с клиническими и радиологическими признаками поражения легких, у которых ИАЛ был исключен в ходе обследования. Период наблюдения – 6 месяцев. Контрольную группу составили 25 практически здоровых людей. Для диагностики инвазивного аспергиллеза использовали клинические и лабораторные критерии EORTC/MSG (European Organisation for Research and Treatment of Cancer/ Mycoses Study Group), 2020 [2]. Все участники подписали добровольное информированное согласие на проведение исследования в соответствии с Хельсинкской декларацией. Пациентам выполняли компьютерную томографию органов грудной клетки (КТ ОГК) в режиме высокого разрешения, фибробронхоскопию с забором бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Лабораторная диагностика ИАЛ включала микроскопическое, культуральное и серологическое исследования. Из образцов БАЛ готовили препараты в просветляющей жидкости (10% раствор КОН в 10% водном растворе глицерина) с добавлением флуоресцирующего маркера (калькофлуор белый). Окрашенный препарат просматривали в люминесцентном микроскопе, отмечали наличие септированных нитей мицелия, ветвящихся под углом 45°. Га-

лактоманнан в БАЛ определяли иммуноферментным методом с использованием специфической диагностической тест-системы PLATELIA® *Aspergillus* (BIO-RAD Laboratories, США). Наличие галактоманнана оценивали путем сравнения оптической плотности исследуемого материала и контрольного образца, содержащего 1 нг/мл галактоманнана. Диагностически значимым считали индекс выше «1,0».

Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови выполняли методом 6-цветного цитофлуориметрического анализа с помощью проточного цитофлуориметра Navios™ (BeckmanCoulter, США). Подготовку образцов периферической крови и настройку цитометра проводили в соответствии с национальными рекомендациями «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Хайдуков С.В. и др., 2012). Лимфоциты окрашивали моноклональными антителами, мечеными флуорохромами, согласно рекомендациям производителя: CD45-PC5/5, CD4-FITC, CD8-ECD, CD3-APC, CD19-FITC, CD56-PC7 и CD25-PE (Beckman Coulter, США). После внесения антител образцы тщательно перемешивали, затем инкубировали при комнатной температуре 15 минут в защищенном от света месте. По завершении инкубации при постоянном перемешивании добавляли лизирующий раствор VersaLyse Lysing Solution (Beckman Coulter, США), инкубировали еще 10 минут в тех же условиях. При цитометрическом анализе для каждого из образцов набирали не менее 5000 лимфоцитов. Полученные результаты изучали с применением программного обеспечения Navios™ Software v1.2 (Beckman Coulter, США). Для дополнительной характеристики Т-клеточного звена иммунной системы вычисляли иммунорегуляторный индекс (ИРИ) – соотношение CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺.

Оценку Т-регуляторных лимфоцитов (Treg) также проводили методом проточной цитометрии при окрашивании лимфоцитов периферической крови моноклональными антителами CD4-FITC, CD127-PC7 и CD25-PE (Beckman Coulter, США). Инкубацию осуществляли в тех же условиях, что и при 6-цветном анализе. После инкубации добавляли 500 мкл лизирующего раствора VersaLyse Lysing Solution и 12,5 мкл фиксирующего раствора Fixative Solution IOTest 3 (Beckman Coulter, США). Через 10 минут инкубации при комнатной температуре в темноте образцы отмывали в 4 мл фосфатно-солевого буфера (ФСБ) 5 минут при 1500 оборотах в минуту, удаляли надсадок, и восстанавливали лейкоцитарную взвесь в 400 мкл ФСБ. При цитометрическом анализе популяцию CD4⁺Т-хелперов на основании позитивного/ негативного гейтирования разделяли на CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg и

CD4⁺CD25⁺CD127⁺ Т-хелперы активированные (Th act), получая их относительное (%) количество.

Уровень общих иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови исследовали иммунотурбидиметрическим методом с использованием коммерческих наборов (Vital, Россия).

Полученные в процессе исследования данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA 10 (StatSoft, США). Нормальность распределения количественных данных проверяли с применением критерия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Изучаемые характеристики представляли медианами, нижним и верхним квартилями (Me (Q_{0,25}; Q_{0,75})). Для оценки различий между независимыми выборками использовали непараметрический критерий Манна-Уитни, зависимыми выборками – критерий Вилкоксона. Выявление корреляционных взаимосвязей между двумя количественными параметрами выполняли непараметрическим методом ранговой корреляции по Спирмену с вычислением коэффициента ранговой корреляции (r). Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Демографические характеристики пациентов исследуемых групп были сходными. Отсутствовали различия по полу между больными ИАЛ и группой сравнения, мужчины составили по 52% и 55% соответственно. Возраст пациентов с ИАЛ варьировал от 31 до 76 лет, медиана – 60, в группе сравнения – от 22 до 77 лет, медиана – 68.

Больные ИАЛ были разбиты на две группы в зависимости от исхода заболевания. В первую группу вошли 13 человек с благоприятным течением аспергиллезной инфекции (благоприятный исход или отсутствие рецидивов в течение 6 месяцев, (ИАЛ исход (+)). Вторую группу составили 9 пациентов с неблагоприятным исходом (ИАЛ исход (-)). Фоновые гематологические заболевания больных ИАЛ и группы сравнения представлены в таблице 1.

Таблица 1

Фоновые заболевания гематологических пациентов

Нозологическая форма	ИАЛ исход (+) n=13	ИАЛ исход (-) n=9	Группа сравнения n=20
Острый миелоидный лейкоз	6 (46%)	4 (44%)	5 (25%)
Острый лимфобластный лейкоз	1 (7,7%)	1 (11%)	2 (10%)
Лимфома Ходжкина	3 (23%)	2 (22,2%)	3 (15%)
Неходжкинская лимфома	-	-	2 (10%)
В-клеточная лимфома	-	-	1 (5%)
Хронический лимфолейкоз	-	1 (11%)	-
Хронический миелолейкоз	1 (7,7%)	-	-
Множественная миелома	1 (7,7%)	-	1 (5%)
Миелодиспластический синдром	-	-	2 (10%)
Острый Т-лимфобластный лейкоз/лимфома	-	-	1 (5%)
Неуточненный лейкоз	1 (7,7%)	1 (11%)	3 (15%)

Установлено, что ИАЛ чаще развивался на фоне острого миелоидного лейкоза – 46% и 44% vs 25%. Большинство пациентов обеих групп получали цитостатическую ПХТ по различным протоколам (HyperCVAD+R, COALL-92, ALL 2009, HAD, 7+3, FLAG и др.). У абсолютного большинства больных обеих групп с верифицированным ИАЛ в период, предшествовавший развитию ИАЛ, отмечали клинически значимую лимфоцитопению < 1x10⁹/л (65%, медиана – 16 дней). Лабораторная диагностика ИАЛ включала микологическое и серологическое исследование БАЛ. При посеве БАЛ *A. fumigatus* выявили у 30% обследованных лиц. Тест на галактоманн у БАЛ был положителен в 48% случаев.

Пациенты с момента постановки диагноза ИАЛ получали антимикотическую терапию: вориконазол, амфотерицин В, каспофунгин и позаконазол. Общая выживаемость в течение 6-ти месяцев составила 59%.

Всем гематологическим больным с подозрением на развитие ИАЛ выполнили иммунологическое исследование. Провели сравнение содержания основных субпопуляций лимфоцитов у пациентов с ИАЛ до назначения антимикотической терапии в зависимости от исхода заболевания (табл. 2). Общими признаками иммунных нарушений для обеих групп больных ИАЛ было достоверное снижение абсолютного числа CD4⁺Т-хелперов (p=0,028 и p=0,017 соответственно) на фоне повышения относительного числа CD4⁺CD25⁺CD127⁺ активированных Т-хелперов (p=0,009, p=0,010 соответственно) по отношению к показателям группы сравнения. Не установлено различий в числе цитотоксических Т-лимфоцитов, NK-клеток, NKT-клеток и Treg CD4⁺CD25⁺CD127⁺ между группами пациентов, включенных в исследование. Особенностью больных с неблагоприятным исходом ИАЛ было значимое снижение относительного и абсолютного числа NK-клеток, экспрессирующих α-цепь антигена CD8 (CD3⁺CD8⁺), по отношению к показателям группы сравнения (p=0,049, p=0,049 соответственно). Корреляционный анализ установил значимую положительную взаимосвязь между числом CD3⁺CD8⁺ NK-клеток и абсолютным количеством CD4⁺Т-клеток (r=0,59, p<0,05), цитотоксических CD8⁺Т-лимфоцитов (r=0,65, p<0,05) и NK-клетками (r=0,88, p<0,05). В целом эти данные указывают на важную роль CD3⁺CD8⁺ NK-клеток в благоприятном течении грибковой инфекции.

При оценке гуморального иммунного ответа не обнаружено достоверных различий в содержании В-лимфоцитов (табл. 2) и уровней IgA, IgM, IgG (табл. 3) между группами гематологических больных, включенных в исследование. На следующем этапе исследования провели сравнение иммунологических показателей у пациентов с ИАЛ до и после антифунгальной терапии в зависимости от исхода заболевания (табл. 4).

Таблица 2

Субпопуляционный состав лимфоцитов крови гематологических больных ИАЛ до назначения антимикотической терапии

Показатели		Группы наблюдения			Достоверность различий, p
		1	2	3	
		Группа сравнения (n=20)	ИАЛ исход (+), (n=13)	ИАЛ исход (-), (n=9)	
Лейкоциты	x10 ⁹ /л	6,40 (2,10-8,90)	2,47 (0,60-5,00)	2,35 (1,00-4,20)	p ₁₋₂ = 0,048 p ₁₋₃ = 0,049
Лимфоциты	%	30,00 (13,00-50,00)	43,00 (27,00-84,00)	78,5 (24,00-97,30)	-
	x10 ⁹ /л	1,16 (0,64-1,60)	0,77 (0,53-1,75)	1,09 (0,55-1,58)	-
Т-лимфоциты CD3 ⁺ CD19 ⁻	%	84,00 (79,00-90,00)	84,00 (80,00-95,00)	87,50 (68,00-93,00)	-
	x10 ⁹ /л	0,88 (0,59-1,30)	0,62 (0,50-1,25)	0,50 (0,34-1,21)	-
Т-хелперы CD3 ⁺ CD4 ⁺	%	49,00 (35,00-61,00)	44,00 (19,00-60,00)	31,50 (8,45-50,00)	-
	x10 ⁹ /л	0,57 (0,34-0,78)	0,34 (0,15-0,37)	0,14 (0,06-0,27)	p ₁₋₂ = 0,028 p ₁₋₃ = 0,017
Т-цитотоксические CD3 ⁺ CD8 ⁺	%	33,00 (23,00-42,00)	29,00 (24,00-60,00)	36,00 (16,00-41,00)	-
	x10 ⁹ /л	0,27 (0,19-0,47)	0,25 (0,14-0,46)	0,28 (0,12-0,54)	-
В-лимфоциты CD3 ⁺ CD19 ⁺	%	3,00 (1,20-9,50)	0,80 (0,30-7,00)	2,50 (0,50-17,00)	-
	x10 ⁹ /л	0,04 (0,01-0,18)	0,01 (0,00-0,06)	0,02 (0,00-0,05)	-
NK-клетки CD3 ⁺ CD56 ⁺	%	8,70 (3,20-10,6)	8,70 (3,40-12,00)	4,90 (3,00-9,10)	-
	x10 ⁹ /л	0,07 (0,03-0,16)	0,07 (0,02-0,16)	0,04 (0,01-0,10)	-
NK-клетки CD3 ⁺ CD8 ⁺	%	3,30 (2,20-5,40)	2,00 (1,10-3,60)	1,40 (0,60-2,60)	p ₁₋₃ = 0,049
	x10 ⁹ /л	0,04 (0,01-0,08)	0,02 (0,01-0,06)	0,01 (0,01-0,02)	p ₁₋₃ = 0,049
NKT-клетки CD3 ⁺ CD56 ⁺	%	2,50 (1,30-6,00)	2,60 (1,90-6,60)	3,75 (1,10-5,40)	-
	x10 ⁹ /л	0,03 (0,01-0,08)	0,03 (0,02-0,03)	0,02 (0,01-0,07)	-
Treg CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	%	11,40 (8,70-13,10)	13,00 (9,00-20,70)	11,00 (9,80-13,10)	-
Th act CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁺	%	20,0 (15,0-24,70)	26,40 (25,10-35,30)	29,20 (23,20-36,50)	p ₁₋₂ = 0,009 p ₁₋₃ = 0,010
ИРИ		1,40 (1,00-2,70)	1,50 (0,30-2,20)	1,30 (0,20-1,60)	-

Примечания. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом Me (Q₂₅-Q₇₅). Статистически значимые различия p между группами выявлены с использованием критерия Манн-Уитни.

Таблица 3

Уровни иммуноглобулинов гематологических больных

Показатели		Группы наблюдения			Достоверность различий, p
		1	2	3	
		Группа сравнения, (n=20)	ИАЛ исход (+), (n=13)	ИАЛ исход (-), (n=9)	
IgA	г/л	2,23 (1,14-4,19)	1,16 (0,37-2,34)	2,48 (0,77-3,18)	-
IgM	г/л	0,90 (0,26-1,19)	0,42 (0,22-0,82)	1,14 (1,04-1,66)	-
IgG	г/л	10,83 (6,48-14,93)	6,89 (3,57-11,53)	8,66 (5,59-10,90)	-

Примечания. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом Me (Q₂₅-Q₇₅). Статистически значимые различия p между группами выявлены с использованием критерия Манн-Уитни.

Таблица 4

Динамика субпопуляционного состава лимфоцитов гематологических больных ИАП до и после антифунгальной терапии в зависимости от исхода заболевания

Показатели		Группы наблюдения				
		ИАП исход (+), (n=6)		ИАП исход (-), (n=5)		Контрольная группа (n=25)
		до	после	до	после	
Лейкоциты	x10 ⁹ /л	2,49 (1,00-2,50) p* = 0,001	4,45 (3,90-6,37) p = 0,046	2,80 (2,10-5,90)	1,90 (1,80-2,70) p = 0,043, p* = 0,000	5,70 (5,30-6,30)
Лимфоциты	%	47,50 (27,00-79,20)	37,8 (22,0-51,00)	56,00 (24,00-74,00)	59,00 (43,00-83,00) p = 0,043, p* = 0,039	36,00 (34,00-37,00)
	x10 ⁹ /л	0,77 (0,53-1,48) p* = 0,001	2,07 (1,30-2,50) p = 0,028	1,44 (0,74-2,76)	0,77 (0,42-1,58) p* = 0,026	1,98 (1,89-2,28)
Т-лимфоциты CD3+ CD19-	%	82,00 (73,00-95,00)	80,5 (54,00-96,00)	84,00 (68,00-85,00)	80,00 (69,00-91,00)	76,00 (70,00-77,00)
	x10 ⁹ /л	0,58 (0,50-0,75) p* = 0,000	1,20 (0,95-1,88) p = 0,028	0,50 (0,38-1,21)	0,62 (0,29-1,47)	1,48 (1,32-1,65)
Т-хелперы CD3+ CD4+	%	54,00 (44,00-65,00)	52,00 (31,00-65,00)	47,00 (33,00-47,00)	43,00 (16,00-46,00)	45,00 (42,00-49,00)
	x10 ⁹ /л	0,35 (0,33-0,37) p* = 0,001	0,69 (0,53-1,19) p = 0,028	0,35 (0,15-0,69) p* = 0,045	0,18 (0,12-0,26) p* = 0,005	0,88 (0,83-1,01)
Т-цит. CD3+CD8+	%	25,5 (22,00-27,00)	24,00 (22,00-27,00)	37,00 (16,00-38,00)	34,00 (20,00-60,00)	26,00 (24,00-29,00)
	x10 ⁹ /л	0,20 (0,14-0,39) p* = 0,001	0,48 (0,36-0,59) p = 0,028	0,20 (0,12-0,55)	0,46 (0,08-0,54)	0,54 (0,45-0,63)
NK-клетки CD3-CD56+	%	7,05 (3,30-10,6)	7,25 (3,80-11,00)	8,00 (3,50-9,10) p* = 0,016	5,80 (3,00-14,00)	12,00 (10,00-14,00)
	x10 ⁹ /л	0,07 (0,02-0,17) p* = 0,001	0,18 (0,05-0,33)	0,10 (0,04-0,12) p* = 0,001	0,11 (0,05-0,12) p* = 0,001	0,25 (0,20-0,29)
NK-клетки CD3-CD8+	%	2,65 (1,10-3,60)	2,40 (1,70-4,20)	2,20 (0,60-2,60) p* = 0,006	1,00 (0,60-4,70)	4,70 (3,00-6,00)
	x10 ⁹ /л	0,03 (0,01-0,06) p* = 0,010	0,06 (0,02-0,13)	0,02 (0,01-0,02) p* = 0,001	0,02 (0,01-0,04) p* = 0,001	0,10 (0,06-0,15)
NKT-клетки CD3+ CD56+	%	3,10 (1,90-5,40)	6,10 (3,10-10,60) p* = 0,031	4,80 (2,70-9,60)	6,00 (3,40-11,50) p* = 0,026	2,30 (1,30-3,00)
	x10 ⁹ /л	0,03 (0,02-0,03) p* = 0,019	0,08 (0,07-0,16) p = 0,046	0,04 (0,02-0,07)	0,13 (0,01-0,14)	0,05 (0,03-0,06)
Treg CD4+CD25+CD127-	%	11,85 (9,75-17,80) p* = 0,046	10,30 (10,00-16,50)	13,10 (9,80-14,60) p* = 0,024	12,10 (10,50-16,95) p* = 0,029	7,90 (6,75-9,30)
Th act CD4+CD25+CD127+	%	32,30 (26,10-39,85) p* = 0,006	41,10 (29,40-41,80) p* = 0,002	30,60 (24,30-36,50) p* = 0,003	24,65 (13,10-37,50) p* = 0,049	14,30 (7,20-20,20)

Примечания. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом Me (Q₂₅-Q₇₅). Статистически значимые различия с использованием критерия Манн-Уитни (p – с контрольной группой), с использованием критерия Вилкоксона (p* – до и после антифунгальной терапии).

Отличием больных ИАЛ с благоприятным течением была положительная динамика абсолютного числа CD4⁺T-хелперов (p=0,028), цитотоксических CD8⁺T-лимфоцитов (p=0,028), НКТ-клеток (p=0,046). Установлено повышение количества НК-клеток и CD3⁺CD8⁺НК-клеток в 67% случаев. У больных ИАЛ с летальным исходом абсолютное число CD4⁺T-хелперов (p=0,045, p=0,005 соответственно), НК-клеток (p=0,001, p=0,001 соответственно), CD3⁺CD8⁺НК-клеток (p=0,001, p=0,001 соответственно) было значимо ниже контрольных значений как при первичном исследовании, так и через 1-2 месяца от начала антифунгальной терапии. Достоверно более высокое число CD4⁺CD25⁺CD127⁺ активированных Т-хелперов по сравнению с контрольными значениями сохранялись у пациентов с ИАЛ обеих групп на протяжении всего периода исследования. Количество CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg нормализовалось в группе больных с благоприятным исходом, однако относительное число НКТ-клеток было достоверно выше контрольных значений, что может свидетельствовать о сохраняющемся воспалительном процессе в слизистых оболочках дыхательных путей.

ОБСУЖДЕНИЕ

За последние десятилетия существенно расширились знания об особенностях иммунопатогенеза инвазивных грибковых инфекций. В защитной реакции на вторжение грибкового патогена участвуют различные клетки врожденного и адаптивного иммунитета, такие как моноциты, нейтрофилы, дендритные клетки (ДК), Т- и В-лимфоциты, а также множество иммунных медиаторов, например, коллестины, дефенсины и цитокины, включая интерфероны [1]. Известно, что тяжелая и продолжительная нейтропения (абсолютное число нейтрофилов ≤ 500 /мкл и длительностью ≥ 10 дней) является важным фактором риска инвазивного аспергиллеза и мукормикоза у пациентов, получающих цитотоксическую химиотерапию или перенесших аллогенную ТГСК. Однако считается, что нейтрофилы играют важную роль на ранней стадии инфекционного процесса [18]. После поглощения микроорганизма ДК переносят грибковые антигены в дренирующие лимфатические узлы, где происходит активация и дифференцировка Т-клеток [19]. Ряд субпопуляций лимфоцитов имеет важное значение в формировании противогрибкового иммунитета. Th1 активируют фагоцитирующие клетки к эффективному уничтожению патогенов, Th17 ответственны за привлечение нейтрофилов в очаг инфекции, Th22 активируют эпителиальные клетки дыхательных путей к продукции антимикробных пептидов, Treg поддерживают тканевой гомеостаз [1]. Кроме того, некоторые цитокины играют важную роль в сложных взаимодействиях между различными клетками иммунной си-

стемы, которые модифицируют и регулируют врожденные и адаптивные иммунные реакции, такие как индукция, пролиферация и дифференцировка, а также активация или подавление различных клеток-мишеней. Однако в последнее время, наравне с классическими лимфоцитами, большее внимание уделяют изучению роли НК-клеток в противогрибковой защите [10].

Нами установлено, что общими признаками иммунных нарушений для обеих групп пациентов с ИАЛ было достоверное снижение абсолютного числа CD4⁺T-хелперов по отношению к показателям группы сравнения. У больных ИАЛ с благоприятным течением инфекционного процесса выявлено постепенное восстановление на фоне антифунгальной терапии абсолютного числа CD4⁺T-хелперов (p=0,028), цитотоксических CD8⁺T-лимфоцитов (p=0,028), НКТ-клеток (p=0,046). Полученные данные согласуются с нашими предыдущими исследованиями и результатами других авторов [14, 20-22].

В нескольких клинических работах показано, что, наряду с клетками адаптивного иммунного ответа, НК-клетки имеют важное значение в благоприятном клиническом исходе инвазивной грибковой инфекции. Stuehler С. с соавторами установили, что снижение количества НК-клеток ниже порога 200 кл/мкл было связано с риском развития ИАЛ, при этом у больных с хорошо контролируемым ИАЛ по сравнению с пациентами с плохим исходом отмечали наиболее быстрое восстановление числа НК-клеток до нормативных показателей. Авторами было сделано предположение, что количество НК-клеток может служить ориентиром для определения длительности назначения противогрибкового лечения [15]. В другом исследовании наблюдали 396 пациентов, перенесших трансплантацию паренхиматозных органов. Снижение числа НК-клеток ниже 50 кл/мкл через 1 месяц после трансплантации было важным фактором риска возникновения инвазивного грибкового заболевания [16]. Нами не обнаружено достоверных различий в числе НК-клеток у гематологических больных ИАЛ по сравнению с пациентами без грибковой инфекции. Однако известно, что немногочисленный пул НК-клеток экспрессирует CD8 в виде гомодимера α -цепей (α/α). По данным Addison E.G. и др., отличием данной субпопуляции CD8⁺НК-клеток человека является более высокая цитолитическая активность по сравнению с классическими CD3⁺CD56⁺CD8⁺НК-клетками как в состоянии покоя, так и после культивирования [13]. Ahmad F. с коллегами подтвердили, что CD8⁺НК-клетки демонстрировали более высокую цитотоксическую активность в отношении вирусов, что определялось по их способности к продукции цитокинов и дегрануляции. Выявлено, что именно число CD8⁺НК-клеток было обратно пропорционально

вирусной нагрузке и связано с более медленным прогрессированием ВИЧ-инфекции [23]. Нами установлено, что отличием пациентов с неблагоприятным исходом ИАЛ было значимое снижение относительного и абсолютного числа «неклассических» активированных CD3⁺CD8⁺NK-клеток по отношению к показателям группы сравнения. Положительная корреляционная связь между числом CD3⁺CD8⁺NK-клеток, абсолютным количеством CD4⁺T-клеток, цитотоксическими CD8⁺T-лимфоцитами и классическими NK-клетками подтверждает важную роль CD3⁺CD8⁺NK-клеток в благоприятном течении грибковой инфекции, но, даже в этом случае, восстановление абсолютного числа CD3⁺CD8⁺NK-клеток не происходило у 33% пациентов, поэтому необходимы дальнейшие исследования.

В настоящее время число изолятов микромицетов, устойчивых к антимикотикам, возрастает, и обычные противогрибковые препараты могут иметь серьезные побочные эффекты для хозяина. И наоборот, иммуномодулирующие терапевтические агенты, нацеленные на иммунный ответ хозяина, обещают улучшить традиционную антифунгальную терапию. Однако необходимы более точные знания об особенностях иммунных нарушений при инвазивных грибковых инфекциях [8, 9, 17, 24]. Так, IL-15 считается ключевым цитокином для развития и поддержания жизнеспособности NK-клеток [25]. Однонуклеотидные полиморфизмы в гене IL-15 уже были предложены в качестве фактора риска развития хронического аспергиллеза легких [26]. В экспериментальном исследовании установлено, что паттерн-распознающий рецептор фагоцитирующих клеток Dectin-1 присутствует в ограниченном количестве на NK-клетках. Dectin-1 распознает β-глюкан, входящий в структуру клеточной стенки грибов рода *Aspergillus*, и стимулирует выработку IL-15, тем самым поддерживая активность популяции NK-клеток, что способствует уничтожению грибов, не вызывая чрезмерной воспалительной реакции [14]. Эти данные и проведенная нами работа подтверждают важную роль NK-клеток в защите от грибов рода *Aspergillus*. Следовательно, опираясь на имеющиеся сведения о роли NK-клеток в течении грибо-

вых заболеваний [27], можно предположить, что NK-клеточная терапия также обладает высоким потенциалом в отношении ИАЛ. Отметим что, несмотря на все многообещающие преимущества, иммуномодулирующая терапия, используемая для лечения грибковых инфекций, все еще находится в стадии разработки. Определение основных клеточных субпопуляций лимфоцитов, в частности CD3⁺CD8⁺NK-клеток, может быть включено в алгоритмы ведения больных ИАЛ и, возможно, служить одним из критериев определения длительности антимикотической терапии.

ВЫВОДЫ

1. Особенностью всех гематологических больных ИАЛ было значимое снижение абсолютного числа CD4⁺T-хелперов на фоне повышения относительного числа CD4⁺CD25⁺CD127⁺ активированных T-хелперов по сравнению с показателями группы сравнения.

2. Значимое снижение относительного и абсолютного числа CD3⁺CD8⁺NK-клеток по отношению к показателям группы сравнения установлено у пациентов с неблагоприятным исходом.

3. Важная роль CD3⁺CD8⁺NK-клеток в клиническом исходе грибковой инфекции подтверждается положительной корреляционной связью их числа с количеством CD4⁺T-клеток, цитотоксических CD8⁺T-клеток и CD3⁺CD56⁺NK-клеток.

4. На фоне антифунгальной терапии у пациентов с благоприятным течением ИАЛ установлено постепенное восстановление абсолютного числа CD4⁺T-хелперов, цитотоксических CD8⁺T-лимфоцитов, NK-клеток.

Исследование выполнено в рамках темы Государственного задания Минздрава России «Молекулярно-генетические и иммунологические аспекты микозов легких, вызванных грибами рода Aspergillus. Фокус на адаптивный иммунный ответ и механизмы иммунной толерантности». Рег. номер ЕГИСУ: 1220121002944

ЛИТЕРАТУРА

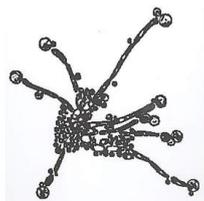
1. Heung L.J., Wiesner D.L., Wang K. et al. Immunity to fungi in the lung. *Semin. Immunol.* 2023; 3 (66): 101728. doi: 10.1016/j.smim.2023.101728
2. Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin Infect Dis.* 2020; 71 (6): 13671376. doi: 10.1093/cid/ciz1008
3. Шадринова О.В., Рачина С.А., Стрелкова Д.А. и др. Инвазивный аспергиллез у больных COVID-19 в отделениях реанимации и интенсивной терапии: результаты многоцентрового исследования. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2022; 24 (4): 295-302. [Shadrivova O.V., Rachina S.A., Strelkova D.A., et al. Invasive aspergillosis in patients with COVID-19 in intensive care units: results of a multicenter study. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy.* 2022; 24 (4): 295-302. (In Russ)]. doi: 10.36488/cmasc.2022.4.295-302

4. Мелёхина Ю.Э., Шадринова О.В., Фролова Е.В. и др. Тяжелый грипп как фактор риска развития инвазивного аспергиллёза лёгких. Журнал инфектологии. 2020; 12 (1): 96-103. [Melekhina Yu.E., Shadrivova O.V., Frolova E.V., et al. Severe influenza as a risk factor for the development of invasive pulmonary aspergillosis. Journal of Infectology. 2020; 12 (1): 96-103. (In Russ)]. doi: 10.22625/2072-6732-2020-12-1-96-103
5. WHO fungal priority pathogens list to guide research. development and public health action. Geneva: World Health Organization; 2022.
6. Шадринова О.В., Фролова Е.В., Тараскина А.Е., Клишко Н.Н. Молекулярно-генетические и иммунологические аспекты инвазивного аспергиллеза. Журнал инфектологии. 2017; 9 (1): 47-54. [Shadrivova O.V., Frolova E.V., Taraskina A.E., Klimko N.N. Molecular genetic and immunological aspects of invasive aspergillosis. Journal Infectology. 2017; 9 (1): 47-54. (In Russ)]. doi:10.22625/2072-6732-2017-9-1-47-54
7. Dib R.W., Hachem R.Y., Chaftari A.M. et al. Treating invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancy: diagnostic-driven approach versus empiric therapies. BMC Infect. Dis. 2018; 18 (1): 656. doi: 10.1186/s12879-018-3584-9
8. Jenks J.D., Rawlings S.A., Garcia-Vidal C., et al. Immune parameters for diagnosis and treatment monitoring in invasive mold infection. J Fungi (Basel). 2019; 16; 5 (4): 116. doi: 10.3390/jof5040116
9. Dellièrre S., Aimaniananda V. Humoral immunity against *Aspergillus fumigatus*. Mycopathologia. 2023; 8: 1-19. doi: 10.1007/s11046-023-00742-0
10. Schmidt S., Tramsen L., Lehrnbecher T. Natural killer cells in antifungal immunity. Front Immunol. 2017; 22 (8): 1623. doi: 10.3389/fimmu.2017.01623
11. Lehrnbecher T., Schmidt S. Why are natural killer cells important for defense against *Aspergillus*? Med. Mycol. 2019; 57 (2): 206-210. doi: 10.1093/mmy/myy034
12. Mace E.M. Human natural killer cells: Form, function, and development. J. Allergy Clin. Immunol. 2023; 151 (2): 371-385. doi: 10.1016/j.jaci.2022.09.022
13. Addison E.G., North J., Bakhsh I., et al. Ligation of CD8alpha on human natural killer cells prevents activation-induced apoptosis and enhances cytolytic activity. Immunology. 2005; 116: 354-361. doi: 10.1111/j.1365-2567.2005.02235.x
14. Yoshikawa F.S.Y., Wakatsuki M., Yoshida K., et al. Dectin-1/IL-15 pathway affords protection against extrapulmonary *Aspergillus fumigatus* Infection by regulating natural killer cell survival. J Innate Immun. 2023; 15 (1): 1-15. doi: 10.1159/000527188
15. Stuehler C., Kuenzli E., Jaeger V.K., et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and association with occurrence and outcome of invasive aspergillosis. J. Infect. Dis 2015; 212: 959-67. doi:10.1093/infdis/jiv143
16. Fernández-Ruiz M., López-Medrano F., San Juan R., et al. Low natural killer cell counts and onset of invasive fungal disease after solid organ transplantation. J. Infect. Dis. 2016; 213:873-874. doi: 10.1093/ infdis/jiv552
17. Ademe M. Immunomodulation for the treatment of fungal infections: opportunities and challenges. Front. Cell Infect. Microbiol. 2020; 15 (10): 469. doi: 10.3389/fcimb
18. Fisher B., Robinson P.D., Lehrnbecher T., et al. Risk factors for invasive fungal disease in pediatric cancer and hema-topoietic stem cell transplantation: a systematic review. J. Pediatric. Infect. Dis. Soc. 2018; 7 (3): 191-198. doi:10.1093/jpids/pix030
19. Borghi M., Renga G., Puccetti M. et al. Antifungal Th immunity: growing up in family. Front. Immunol. 2014; 5: 506. doi:10.3389/fimmu.2014.00506
20. Шадринова О.В., Фролова Е.В., Филиппова Л.В. и др. Клинико-иммунологические особенности инвазивного аспергиллеза у больных лимфомой Ходжкина. Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. 2014; 7 (2):233-238. [Shadrivova O.V., Frolova E.V., Filippova L.V., et al. Clinical and immunological features of invasive aspergillosis in patients with Hodgkin's lymphoma. Clinical oncohematology. Basic research and clinical practice. 2014; 7 (2): 233-238. (In Russ)].
21. Шадринова О.В., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е. и др. Прогностическое значение иммунологических показателей у реципиентов трансплантатов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток с инвазивным аспергиллезом. Проблемы медицинской микологии. 2015; 17 (1): 14-20. [Shadrivova O.V., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., et al. Prognostic value of immunological parameters in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants with invasive aspergillosis. Problems in Medical Mycology. 2015; 17 (1): 14-20. (In Russ)].
22. Фролова Е.В., Шадринова О.В., Филиппова Л.В. и др. Прогностическое значение иммунологических показателей у гематологических больных инвазивным аспергиллезом. Проблемы медицинской микологии. 2014; 16 (3): 37-43. [Frolova E.V., Shadrivova O.V., Filippova L.V., et al. Prognostic value of immunological parameters in hematological patients with invasive aspergillosis. Problems in Medical Mycology. 2014; 16 (3): 37-43. (In Russ)].

23. *Ahmad F., Hong H.S., Jäckel M., et al.* High frequencies of polyfunctional CD8+ NK cells in chronic HIV-1 infection are associated with slower disease progression. *J. Virol.* 2014; 88 (21):1 2397-12408. doi: 10.1128/JVI.01420-14
24. *Song L., Zhao Y., Wang G., et al.* Investigation of predictors for invasive pulmonary aspergillosis in patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome. *Sci. Rep.* 2023; 13 (1): 1538. doi: 10.1038/s41598-023-28851-2.
25. *Pfefferle A., Jacobs B., Haroun-Izquierdo A., et al.* Deciphering natural killer cell homeostasis. *Front. Immunol.* 2020; 11: 812. doi:10.3389/fimmu.2020.00812
26. *Smith N.L.D., Hankinson J., Simpson A., et al.* A prominent role for the IL-1 pathway and IL-15 in susceptibility to chronic cavitary pulmonary aspergillosis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20 (8): O480-488. doi: 10.1111/1469-0691.12473
27. *Liu S., Galat V., Galat Y. et al.* NK cell-based cancer immunotherapy from basic biology to clinical development. *J Hematol. Oncol.* 2021; 14 (1): 7. doi: 10.1186/s13045-020-01014-w

Поступила в редакцию журнала 01.09.23

Принята к печати 12.09.23



Для цитирования: Прокопьев В.В., Руденко А.В., Сафьянова Т.В., Емельянова И.В., Звездкина Г.С. Адгезивная активность аскомицетных и базидиомицетных дрожжей микобиома кишечника. 2023; 25 (3): 37-41. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-37-41

For citation: Prokopiev V.V., Rudenko A.V., Safyanova T.V., Emelyanova I.V., Zvezdkina G.S. Adhesive activity of ascomycete and basidiomycete yeasts of the intestinal mycobiome. Problems in Medical Mycology. 2023; 25 (3): 37-41. (In Russ). DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-37-41

АДГЕЗИВНАЯ АКТИВНОСТЬ АСКОМИЦЕТНЫХ И БАЗИДИОМИЦЕТНЫХ ДРОЖЖЕЙ МИКОБИОМА КИШЕЧНИКА

^{1,2}Прокопьев В.В. (доцент, врач-бактериолог)*, ¹Руденко А.В. (зав. учебными лабораториями), ¹Сафьянова Т.В. (зав. кафедрой), ³Емельянова И.В. (врач-бактериолог), ³Звездкина Г.С. (зав. лаб.)

¹Алтайский государственный медицинский университет (кафедра эпидемиологии, микробиологии и вирусологии); ²ООО КДЛ «Здоровье»; ³Краевая клиническая больница, Барнаул, Россия

С появлением масс-спектрометрии и NGS-технологий количество публикаций, посвященных исследованию микробиоты кишечника, увеличилось многократно. В то же время работ по изучению грибкового компонента микробиоты кишечника человека – микобиома кишечника существенно меньше. При бактериологическом исследовании кала пациентов с патологией кишечника и у здоровых людей, проходящих плановый медицинский осмотр, были выделены аскомицетные (*Pichia kudriavzevii*, *Pichia kluyveri*, *Geotrichum candidum*, *Wickerhamiella pararugosa*, *Brettanomyces bruxellensis*) и базидиомицетные (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon asahii*) дрожжи. В настоящей работе проведена оценка адгезивной активности выделенных дрожжей на буккальном эпителии человека по сравнению с *Candida albicans*, также полученной из кишечника. В ходе исследования обнаружено, что грибы рода *Candida* обладали наибольшими показателями индекса адгезии и процента участвующих в адгезии эпителиоцитов. Высокая адгезивная активность также отмечена у *R. mucilaginosa*, *B. bruxellensis*. Адгезия *P. kudriavzevii*, *P. kluyveri*, *W. pararugosa* была существенно ниже. *T. asahii* и *G. candidum* адгезию на буккальных эпителиоцитах не проявляли.

Ключевые слова: адгезивная активность, микобиом кишечника, аскомицетные дрожжи, базидиомицетные дрожжи

* Контактное лицо: Прокопьев Василий Валерьевич, e-mail: vasily78@mail.ru

ADHESIVE ACTIVITY OF ASCOMYCETE AND BASIDIOMYCETE YEASTS OF THE INTESTINAL MYCOBIOME

^{1,2}Prokopiev V.V. (associate professor, bacteriologist), ¹Rudenko A.V. (head of teaching laboratory), ¹Safyanova T.V. (head of department), ³Emelyanova I.V. (bacteriologist), ³Zvezdkina G.S. (head of the laboratory)

¹Altai State Medical University (Department of Epidemiology, Microbiology and Virology); ²LLC CDL "Health"; ³Regional Clinical Hospital, Barnaul, Russia

*With the advent of mass spectrometry and NGS technologies, the number of studies devoted to the study of the intestinal microbiota has increased many times. At the same time, there are significantly fewer works on the study of the fungal component of the human intestine – the human mycobiome. In a bacteriological study of the faeces of patients with intestinal pathology and in healthy people undergoing a routine medical examination, ascomycete (*Pichia kudriavzevii*, *Pichia kluyveri*, *Geotrichum candidum*, *Wickerhamiella pararugosa*, *Brettanomyces bruxellensis*) and basidiomycete (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon asahii*) yeasts were isolated. In the present work, the adhesive activity of isolated yeasts on human buccal epithelium was evaluated in comparison with *Candida albicans*, also isolated from intestine. As a result of the study, it was found that fungi of the genus *Candida* had the highest index of adhesion and the percentage of epitheliocytes involved in adhesion. High adhesive activity was also noted in *R. mucilaginosa* and *B. bruxellensis*. Adhesion of *P. kudriavzevii*, *P. kluyveri*, *W. pararugosa* was significantly lower. *T. asahii* and *G. candidum* did not show adhesion to buccal epitheliocytes.*

Key words: adhesive activity, intestinal mycobiome, ascomycetes yeast, basidiomycetes yeast

ВВЕДЕНИЕ

За последние десять лет количество работ, посвященных исследованию микробиоты кишечника, увеличилось более чем в десять раз. Это стало возможным благодаря появлению мощного молекулярно-биологического инструментария, а именно: секвенирования и масс-спектрометрии. Методы мета-

геномики позволили изучать некультивируемые организмы. Большинство публикаций по видовому составу микробиоты кишечника связано с идентификацией бактерий по 16S РНК. Несмотря на наличие у микромицетов схожего метода идентификации по последовательностям внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS1,2) и гена 18S РНК [1], работ по микобиому кишечника существенно меньше [2]. Широкие возможности секвенирования всё же не позволяют в полной мере оценить фенотипические проявления изучаемых генов, а, соответственно, и роль найденных микроорганизмов в их взаимодействии с организмом человека.

Использование масс-спектрометрии, ограниченное только культивируемыми микроорганизмами, также расширило наши знания относительно этиологического разнообразия микроорганизмов кишечника. В то же время наличие точно идентифицированных культур даёт более широкие возможности их исследования и определения роли в симбиотических отношениях с организмом человека.

Несмотря на ограниченное количество работ, посвященных исследованию микромицетов кишечника, становится очевидным факт существенного влияния микроскопических грибов на человека [3].

Адгезия является одним из основных факторов вирулентности всех патогенных микроорганизмов на начальных этапах инфекционного процесса. Только после прикрепления на клетках организма хозяина патогены начинают колонизацию, что в свою очередь делает их более защищенными от иммунных механизмов организма хозяина и способствует дальнейшей инвазии [4].

В нашей работе мы сравнили хорошо изученную адгезивную активность *Candida albicans* [5, 6] с адгезивной активностью других, редко встречающихся аскомицетных (*Pichia kudriavzevii*, *Pichia kluyveri*, *Geotrichum candidum*, *Wickerhamiella pararugosa*, *Brettanomyces bruxellensis*) и базидиомицетных (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon asahii*) дрожжей, выделенных из кишечника человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучали базидиомицетные дрожжи *R. mucilaginosa* (19 штаммов), *T. asahii* (2) и аскомицетные дрожжи *C. albicans* (7), *G. candidum* (19), *P. kudriavzevii* (6), *B. bruxellensis* (2), *P. kluyveri* (1) и *W. pararugosa* (1). Все штаммы были получены при бактериологическом исследовании кала пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта и из кала здоровых людей, проходящих плановый медицинский осмотр.

Кал засеивали на среду Сабуро с 2% глюкозы и хлорамфениколом (0,4 г/л) и инкубировали при 35 °С в течение 72 часов, далее чашки в течение недели инкубировали при температуре 25 °С.

Идентификацию дрожжей проводили на основе их морфологических, биохимических и культуральных свойств при помощи «Atlas of Clinical Fungi» de Hoog GS et al., 4th ed. (2020) и интернет ресурса www.clinicalfungi.org.

Для более точной идентификации дрожжей, отличных от грибов рода *Candida*, применяли масс-спектрометр Microflex, производитель – Bruker Daltonik GmbH & Co. KG (Германия), с уникальным программным обеспечением MALDI Biotyper, содержащим референтскую базу данных (более 2500 видов микроорганизмов и 7800 штаммов).

В качестве субстрата для адгезии использовали буккальные эпителиоциты, полученные от здоровых не курящих доноров 18-20 лет, взятые утром, натощак, с внутренней поверхности щеки. Материал забирали цитощеткой после предварительного тщательного полоскания ротовой полости забуференным физиологическим раствором (ЗФР). Эпителиоциты дважды отмывали физиологическим раствором (40 г, 5 мин) и готовили взвесь с концентрацией 10⁶ кл/мл.

Штаммы грибов, выращенные на среде Сабуро в течение 48-72 часов, ресуспендировали в физиологическом растворе хлорида натрия. При помощи Densi-La-Meter II (Erba Group, EU) суспензии доводили до оптической плотности, равной 1,0 МакФарланда для *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Wickerhamiella*, 1,5 – для *Geotrichum* и 2,5 – для *Trichosporon*, что соответствовало 10⁷ КОЕ/мл (рассчитано при помощи камеры Горяева).

Оценку адгезии в системе «микромицет – буккальные эпителиоциты» проводили следующим образом: равные объемы (по 50 мкл) взвеси эпителиоцитов и исследуемых грибов в концентрации 10⁵ КОЕ/мл инкубировали в течение 30 минут при 37°С в ЗФР, встряхивая каждые 5 мин. После инкубации эпителиоциты трехкратно отмывали ЗФР от неприкрепившихся грибов (40 г, 5 мин). Оставшийся осадок ресуспендировали в 100 мкл ЗФР и подсчитывали прикрепившиеся клетки грибов к буккальному эпителию в камере Горяева. Определяли индекс адгезии, т.е. среднее количество микромицетов в пересчете на один эпителиоцит и процент участвующих в адгезии эпителиоцитов (учитывали 100 клеток).

Анализ и статистическую обработку данных осуществляли при помощи расчёта критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественного сравнения с контрольной группой $p < 0,05$. Оценку корреляции выполняли при помощи расчёта коэффициента корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, полученные в ходе работы, достоверно свидетельствуют ($p < 0,05$) об уровне в адгезивной активности *R. mucilaginosa*, *P. kudriavzevii* и *G. can-*

didum относительно *C. albicans*. Количество штаммов (*T. asahii* – 2 штамма, *B. bruxellensis* – 2, *P. kluyveri* – 1 и *W. pararugosa* – 1) не дает возможности провести достоверный статистический анализ, но, в некоторой степени, позволяют судить об адгезивной активности изученных микроорганизмов.

Исследованные нами параметры – индекс адгезии и процент участвующих в адгезии эпителиоцитов показали, что коэффициент корреляции Спирмена (ρ) равен 1,0, т.е. связь между параметрами – прямая, теснота (сила) связи по шкале Чеддока – функциональная.

На рисунке 1 видно, что грибы рода *Candida* обладают наибольшим индексом адгезии среди всех исследуемых микромицетов.

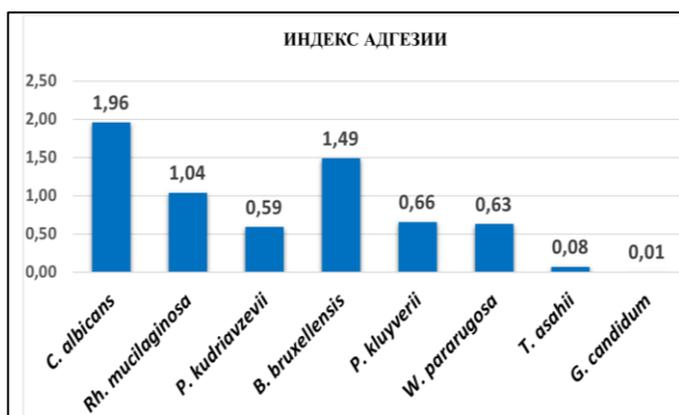


Рис. 1. Индекс адгезии дрожжеподобных грибов микобиома человека.

Нами не отмечено разницы между индексом адгезии аскомицетных и базидиомицетных дрожжей.

На рисунке 2 представлена диаграмма процента участвующих в адгезии эпителиоцитов.

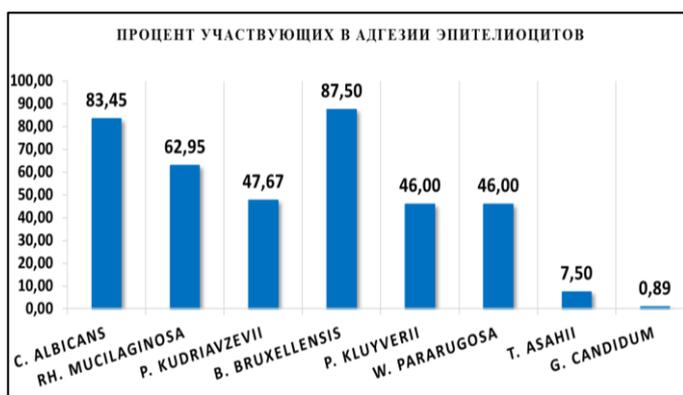


Рис. 2. Процент адгезии дрожжеподобных грибов микобиома человека.

Роль грибов рода *Candida* в патологии человека общепринята и не вызывает сомнений. Роль других микромицетов, исследованных в нашей работе, менее очевидна и требует изучения.

R. mucilaginoso рассматривается как условно-патогенный грибок. В то же время в последние десятилетия отмечен рост заболеваний, вызванных данным патогеном. Данный микроорганизм преимущественно связан с фунгемией, поражением центральной нервной системы и катетер-ассоциированными инфекциями [7]. Несмотря на нередкие случаи нахождения этих грибов в кишечнике [8, 9], их роль в патологии желудочно-кишечного тракта не до конца выяснена. Относительно высокие показатели индекса адгезии и процента участвующих в адгезии эпителиоцитов подтверждают патогенный потенциал этого микроорганизма и его возможное участие в патологии желудочно-кишечного тракта.

P. kudriavzevii – телеморф *Candida krusei* способен вызывать фунгемиию [10], перитонит [11] и прочую патологию. С другой стороны, в ряде работ описаны пробиотические свойства данного микроорганизма [12, 13]. Показанные в настоящей работе адгезивные свойства этого аскомицета могут быть использованы как для мутуалистических, так и для антагонистических взаимоотношений с организмом человека. Роль *P. kluyveri* ещё менее очевидна, хотя случаи заболевания, вызванные данным микроорганизмом, описаны [14].

Литературных данных о патологии, связанной с *B. bruxellensis*, нами не обнаружено, и выделение этих грибов из стула человека, возможно, связано с транзитным носительством. В то же время относительно высокая адгезивная активность к буккальному эпителию человека позволяет предположить возможные симбиотические отношения этого микроорганизма с человеком, что требует дальнейшего изучения.

W. pararugosa (*Candida pararugosa*) считается редким патогеном человека, вызывающим фунгемиию, катетер-ассоциированные инфекции [15, 16] и другую патологию. Показатели адгезивной активности микромицета, выявленные в нашей работе, лишь подтверждают значимость этих дрожжей в патологии человека.

G. candidum нередко обнаруживается в кишечнике человека, но его роль в патологии человека до конца не доказана. С одной стороны, описаны случаи заболеваний, вызванные данным микроорганизмом [17,18], с другой – доказана его пробиотическая активность [19]. В настоящем исследовании мы отметили практически полное отсутствие адгезии *G. candidum* на буккальном эпителии, что дает возможность предположить наличие других механизмов взаимодействия с клетками человека.

T. asahii более известен как патоген кожи и её придатков. Однако его присутствие в кишечнике человека не является редким [20]. Низкая адгезивная активность к буккальному эпителию, выявленная в этой работе, позволяет предположить незначитель-

ную роль данного микроорганизма в патологии кишечника или наличие других механизмов персистенции.

Полученные нами данные дают лишь представление о возможности изученных микроорганизмов колонизировать ткани человека. Для более достоверной оценки типа симбиотических взаимоотношений между микромицетами кишечника и организмом человека необходимы дальнейшие исследования.

ВЫВОДЫ

Изучение микобиоты человека и микобиоты кишечника в частности находится в самом начале. Данные научной литературы немногочисленны и зачастую противоречивы. Даже установление типа взаимоотношения с организмом человека часто порождает вопросы, т.к. одни и те же микромицеты могут вызывать заболевания и оказывать пробиоти-

ческий эффект. В нашей работе мы оценили один из первых этапов взаимодействия клеток человека и базидио- и аскомицетных дрожжей, выделенных из кишечника человека. По сравнению с грибами рода *Candida*, исследованные микроорганизмы обладали меньшей адгезивной активностью, тем не менее её наличие может свидетельствовать о возможности колонизации тканей человека. У *G. candidum* и *T. asahii* адгезивная активность к буккальному эпителию отсутствовала, но частое выделение вышеуказанных микромицетов из кишечника человека говорит о наличии других механизмов персистенции. Для более достоверной оценки типа симбиотических взаимоотношений между микромицетами кишечника и организмом человека необходимо дальнейшее изучение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. Proc. Natl Acad Sci USA. 2012; 109 (16): 6241-6246. doi.org/10.1073/pnas.1117018109
2. Nash A.K., Auchtung T.A., Wong M.C., et al. The gut mycobiome of the Human Microbiome Project healthy cohort. Microbiome. 2017; 5 (1): 153. doi: 10.1186/s40168-017-0373-4
3. Wu X., Xia Y., He F., et al. Intestinal mycobiota in health and diseases: from a disrupted equilibrium to clinical opportunities. Microbiome. 2021; 9 (1): 60. doi: 10.1186/s40168-021-01024-x
4. Харсеева Г.Г., Миронов А.Ю., Алиева А.А. Подавление бактериальной адгезии: современные подходы, проблемы и перспективы. Успехи современной биологии. 2019; 139 (5): 506-515. [Kharseeva G.G., Mironov A.Yu., Alieva A.A. Suppression of bacterial adhesion: modern approaches, problems and prospects. The successes of modern biology. 2019; 139 (5): 506-515 (In Russ)]. doi: 10.1134/S0042132419050065
5. Саргсян А.Р., Булгаков В.С., Кравцов Э.Г. Адгезивная активность дрожжеподобных грибов рода *Candida*, входящих в микробиоценоз ротовой полости. Российская стоматология. 2016; 9 (1):118-118. [Sargsjan A.R., Bulgakov V.S., Kravtsov É.G. Russian Stomatology. 2016; 9 (1):118-118. (In Russ.)].
6. Анохина И.В., Кравцов Э.Г., Сачивкина Н.П. и др. Характеристика адгезивной активности клинических изолятов дрожжеподобных грибов *Candida albicans* в динамике менструального цикла. Вестник РУДН. Серия: Медицина. 2012; 1: 17-21. [Anokhina I.V., Kravtsov E.G., Sachivkina N.P., et al. Adhesive activity of clinical isolates of *Candida albicans* yeast cells during menstrual cycle. Bulletin of the RUDN. Series: Medicine. 2012; 1: 17-21. (In Russ)].
7. Ioannou P., Vamvoukaki R., Samonis G. *Rhodotorula* species infections in humans: A systematic review. Mycoses. 2019; 62 (2): 90-100. doi: 10.1111/myc.12856
8. Raimondi S., Amaretti A., Gozzoli C., et al. Longitudinal survey of fungi in the human gut: ITS profiling, phenotyping, and colonization. Front Microbiol. 2019; 10: 1575. doi: 10.3389/fmicb.2019.01575
9. Garcia-Gamboa R., Kirchmayr M.R., Gradilla-Hernández M.S., et al. The intestinal mycobiota and its relationship with overweight, obesity and nutritional aspects. J. Hum. Nutr. Diet. 2021; 34 (4): 645-655. doi: 10.1111/jhn.12864
10. Nagarathamma T., Chunchanur S.K., Rudramurthy S.M., et al. Outbreak of *Pichia kudriavzevii* fungaemia in a neonatal intensive care unit. J. Med. Microbiol. 2017; 66 (12): 1759-1764. doi: 10.1099/jmm.0.000645
11. Al Bshabshe A., Joseph M.R.P., Battayah E.S., Hamid M.E. Fungal peritonitis caused by *Pichia kudriavzevii* following sleeve gastrectomy. Ann Saudi Med. 2019; 39 (3): 205-208. doi: 10.5144/0256-4947.2019.205
12. Moure M.C., Pérez Torrado R., Garmendia G., et al. Characterization of kefir yeasts with antifungal capacity against *Aspergillus* species. Int. Microbiol. 2022. doi: 10.1007/s10123-022-00296-z
13. Hong S.M., Kwon H.J., Park S.J., et al. Genomic and probiotic characterization of SJP-SNU strain of *Pichia kudriavzevii*. AMB Express. 2018; 8 (1): 80. doi: 10.1186/s13568-018-0609-0
14. De Greef F., Hayette M.P., Rossi C. Fungemia caused by *Pichia kluyveri*: An uncommon yeast infection. New Microbes New Infect. 2022; 49-50: 101018. doi: 10.1016/j.nmni.2022.101018

15. El Helou G., Palavecino E. *Candida pararugosa*: First Reported Bloodstream Infection in an Adult. *Cureus*. 2017; 9 (5): e1283. doi: 10.7759/cureus.1283
16. Piatti G., Feltrin S., Fellini E., et al. Catheter-related sepsis by *Candida pararugosa* in an adult patient under chemotherapy regimen. *Case Rep. Infect. Dis.* 2021; 2021: 8858157. doi: 10.1155/2021/8858157
17. Jagirdar J., Geller S.A., Bottone E.J. *Geotrichum candidum* as a tissue invasive human pathogen. *Hum Pathol.* 1981; 12 (7): 668-71. doi: 10.1016/s0046-8177(81)80055-x
18. Ghosh P., Boler A.K. *Geotrichum candidum*: A rare primary pathogen in pulmonary geotrichosis. *Indian J. Med. Res.* 2020; 152 (Suppl 1): S123-S124. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_2202_19
19. Noor-Ul H., Haokun L., Junyan J., et al. Dietary supplementation of *Geotrichum candidum* improves growth, gut microbiota, immune-related gene expression and disease resistance in gibel carp CAS (*Carassius auratus gibelio*). *Fish Shellfish Immunol.* 2020; 99: 144-153. doi: 10.1016/j.fsi.2020.02.001
20. Cho O., Matsukura M., Sugita T. Molecular evidence that the opportunistic fungal pathogen *Trichosporon asahii* is part of the normal fungal microbiota of the human gut based on rRNA genotyping. *Int. J. Infect Dis.* 2015; 39: 87-8. doi: 10.1016/j.ijid.2015.09.009

Поступила в редакцию журнала 20.03.23

Принята к печати 28.03.23



Для цитирования: Шипко Е.С., Дуванова О.В., Писанов Р.В., Кругликов В.Д., Квасов А.Р., Носков А.К. Влияние поллютантов на спектр жирных кислот *Vibrio cholerae*. 2023; 25 (3): 42-50. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-42-50

For citation: Shipko E.S., Duvanova O.V., Pisanov R.V., Kruglikov V.D., Kvasov A.R., Noskov A.K. Effect of pollutants on the spectrum of fatty acids of *Vibrio cholerae*. 2023; 25 (3): 42-50. (In Russ). DOI 10.24412/1999-6780-2023-3-42-50

ВЛИЯНИЕ ПОЛЛЮТАНТОВ НА СПЕКТР ЖИРНЫХ КИСЛОТ *VIBRIO CHOLERAЕ*

¹Шипко Е.С. (м.н.с.)*, ¹Дуванова О.В. (с.н.с.),
¹Писанов Р.В. (в.н.с.), ¹Кругликов В.Д. (г.н.с.),
²Квасов А.Р. (зав. кафедрой), ¹Носков А.К. (директор)

¹Ростовский-на-Дону противочумный институт;
²Ростовский государственный медицинский университет,
Ростов-на-Дону, Россия

Методом газовой хромато-масс-спектрометрии проведена сравнительная оценка влияния поллютантов на спектр жирных кислот штаммов *Vibrio cholerae* O1, O139 и nonO1/nonO139 серогрупп, выделенных из окружающей среды и из клинического материала. Показано, что присутствие солей тяжелых металлов в питательной среде увеличивало сатурацию липидов клеток *V. cholerae* за счет синтеза линейных насыщенных жирных кислот (пальмитиновой и стеариновой), активировало механизм *cis/trans*-изомеризации. В ответ на действие солей Pb, Fe, Cd, Ni отмечено появление *anteiso*-разветвленных насыщенных жирных кислот, альдегидов, спиртов, эпоксидов и оксикислот. Инкубация с фенолом вызывала у *V. cholerae* альтернативные реакции: штаммы O1 серогруппы реагировали на присутствие фенола синтезом длинноцепочечных жирных кислот, тогда как штаммы O139 серогруппы – синтезом *anteiso*-разветвленных жирных кислот. Добавление поллютантов в питательную среду стимулировало накопление в клетках специфических веществ, возможно, играющих роль адаптогенов.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, жирные кислоты, тяжелые металлы, фенол

EFFECT OF POLLUTANTS ON THE SPECTRUM OF FATTY ACIDS OF *VIBRIO CHOLERAЕ*

¹Shipko E.S. (junior scientific researcher),
¹Duvanova O.V. (senior scientific researcher),
¹Pisanov R.V. (leading scientific researcher),
¹Kruglikov V.D. (chief scientific researcher),
²Kvasov A.R. (head of the department),
¹Noskov A.K. (director)

¹Rostov-on-Don Antiplaque Institute, ²Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

A comparative assessment of the effect of pollutants on the spectrum of fatty acids of *Vibrio cholerae* strains O1, O139 and nonO1/nonO139 serogroups isolated from the environment and from clinical material was carried out by gas chromatography-mass spectrometry. It was shown that the presence of heavy metal salts in the nutrient medium increased the lipid saturation of *V. cholerae* cells due to the synthesis of linear saturated fatty acids (palmitic and stearic), activated the *cis/trans*-isomerization mechanism. In response to the action of Fe, Cd, Ni salts the appearance of *anteiso*-branched saturated fatty acids, aldehydes, alcohols, epoxides and oxyacids was noted. Incubation with phenol caused alternative reactions in *V. cholerae*: strains of the O1 serogroup reacted to the presence of phenol by synthesis of long-chain fatty acids, whereas strains of the O139 serogroup reacted by synthesis of *anteiso*-branched fatty acids. The addition of pollutants to the nutrient medium stimulated the accumulation of specific substances in the cells, possibly playing the role of adaptogens.

Key words: *Vibrio cholerae*, fatty acids, heavy metals, phenol

ВВЕДЕНИЕ

Резко усилившееся в последнее время влияние антропогенных факторов на гидросистемы привело к тому, что аутохтонные обитатели водоемов, включая *Vibrio cholerae*, испытывают негативное воздействие загрязняющих веществ (поллютантов). Среди поллютантов, поступающих в водотоки и водоемы Ростовской области, наиболее распространенными являются ионы тяжелых металлов (Zn, Co, Cu, Cr, Fe, Cd, Ni, Hg) и фенолы [1, 2]. В водоемы они попадают из поверхностных слоев почвы, под-

* Контактное лицо: Шипко Елена Сергеевна,
e-mail: helena.shipman@gmail.com

земных вод, горных пород, со сточными водами промышленных предприятий и атмосферными осадками, которые загрязняются выбросами. В зависимости от геохимических условий отмечаются широкие колебания их уровня.

Тяжелые металлы (ТМ) играют двоякую роль в процессах жизнедеятельности микроорганизмов. Некоторые из них, такие как Mo, Cu, Mn, Zn, Ni, Co, Fe являются жизненно необходимыми для бактерий микроэлементами. Физиологическая активность их связана главным образом с включением в состав активных центров некоторых ферментов, с ферментативным катализом (включая ферменты агрессии бактериальных патогенов: уреазу, деацетилазу, [NiFe] гидрогеназу и аргиназу), функцией в клеточном сигналинге [3, 4]. Поглощение, перемещение и экспорт металлов имеют первостепенное значение в процессах деления и поддержания жизнедеятельности клеток бактериальных патогенов в ходе инфекционного процесса, способствуют формированию биопленок, переходу возбудителей в некультивируемое состояние, связанное с генерацией клеток-персистеров [5]. Однако повышенные концентрации делают их сильнейшими токсикантами. Cd, Pb, Sn, Hg, Ag не выполняют биологических функций, однако при высоких концентрациях являются чрезвычайно токсичными для микробной клетки. Токсический эффект, инициируемый неорганическими поллютантами, обусловлен растворением токсиканта в определенных компартментах клетки либо комплексобразованием с биомолекулами. Взаимодействуя с гидроксильными, карбоксильными, фосфатными, сульфгидрильными и аминогруппами, ТМ могут образовывать комплексы практически со всеми типами веществ, участвующих в метаболизме клеток (белками, нуклеотидами, коферментами, фосфолипидами, порфиринами). Одними из наиболее распространенных эффектов ТМ являются ферментотоксическое и мембранотоксическое действия. Существуют данные, что ТМ индуцируют окислительное повреждение клеточной мембраны, способствуют повышению ее проницаемости и генерации активных форм кислорода, нарушают синтез липидов и жирных кислот. Мембранотропные органические загрязнители способны проникать в цитоплазматическую мембрану, приводя к ее набуханию, увеличению текучести и изменению проницаемости. Это, в свою очередь, приводит к потере функциональности мембраны и повреждению бактериальной клетки вследствие неконтролируемого оттока протонов и ионов калия [6].

Отметим, что, помимо внешней среды, клетки патогенных микроорганизмов подвергаются воздействию токсических концентраций металлов и при инфицировании организма хозяина. Так, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella enterica* вынуждены противо-

стоять токсичным концентрациям Cu в макрофагах, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* и *Mycobacterium tuberculosis* – высокому содержанию Zn в нейтрофилах и макрофагах, *Bacillus anthracis* – избытку гемового Fe хозяина, а *Helicobacter pylori* требуется устойчивость к Cd, Zn и Ni для колонизации желудка хозяина [7]. Устойчивость к Cu необходима также для колонизации клеток хозяина и вирулентности некоторым штаммам патогенных вибрионов [8]. Поэтому прокариоты были вынуждены развить систему гомеостаза (металлостаза), чтобы обеспечить контроль над концентрацией ионов ТМ внутри клеток.

Стратегия адаптации к ТМ со стороны бактериальной клетки сводится к следующим механизмам: детоксикации поллютантов посредством клеточного метаболизма, активной экстррузии системами эффлюкса, секвестрации металлов полимерами и экранированию содержимого клетки от агрессивной среды за счет ремоделирования состава мембраны. Целостность и текучесть мембраны являются ключевыми факторами в поддержании выживаемости клеток. Являясь центрами восприятия, интегрирования сигналов и инициации быстрых ответов на изменения экологических факторов, клеточная мембрана поддерживает постоянство внутриклеточной среды и играет решающую роль в росте, метаболизме и устойчивости к стрессу, в том числе токсическому. Жирные кислоты (ЖК) фосфолипидов первыми вовлекаются в ответные реакции на стимулы внешней среды. Десатурация, элонгация, циклопропанирование, *iso/anteiso*-разветвления и изменения пространственной конфигурации ацильных цепей ЖК формируют первую линию защиты клетки, оказывая влияние на структуру и динамику липидного бислоя, и могут служить маркерами физиологических изменений при воздействии стрессовых факторов.

Учитывая тот факт, что поллютанты в зависимости от концентрации способствуют возникновению антибиотикоустойчивых штаммов [9], усиливают адгезивные и инвазивные свойства патогенов, формируя появление более эпидемически опасных штаммов [10], изучение стратегий адаптации возбудителей особо опасных инфекций к данному типу стресса является актуальной задачей.

В доступной литературе сведений о роли изменения ЖК состава в выживаемости холерных вибрионов в условиях стресса, индуцированного поллютантами, чрезвычайно мало.

Цель данной работы: исследовать действие поллютантов на спектр ЖК штаммов *V. cholerae* с различным набором детерминант патогенности, выделенных из различных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали штаммы *V. cholerae* с различным набором детерминант патогенности: токсигенные штаммы, выделенные из клинического материала, с генотипами *ctxAB⁺tcpA⁺* (O1 classical 680, O1 El Tor 18332, O139 16064) и эпидемически неопасные, изолированные из окружающей среды, с генотипом *ctxAB⁻tcpA⁻* (O1 El Tor P-20000, O139 17682, nonO1/nonO139 20173). Все штаммы были получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, где их хранили в лиофилизированном состоянии.

Уровень индивидуальной устойчивости бактериальных штаммов к поллютантам оценивали на основе определения максимальной концентрации, при которой не был отмечен эффект подавления роста культуры. Для этого штаммы *V. cholerae* культивировали на агаре Мартена (pH – 7,8) с добавками токсикантов в возрастающих концентрациях. Положительный контроль представлял собой бактериальные культуры, выращенные на питательной среде без добавления поллютанта. Время и температура инкубации в аэробных условиях составляли 24 ч и 23 °С соответственно. Для моделирования стресса, вызванного действием поллютантов, использовали соли ТМ: CuSO₄•5H₂O, ZnCl₂, CoCl₂, NiSO₄•7H₂O, CdSO₄, (CH₃COO)₂Pb, FeCl₃ отечественного производства (Реахим), а также фенол (Serva, Германия).

Для анализа изменений ЖК состава под влиянием поллютантов взвесь суточной агаровой культуры вносили в 3 мл 1% пептонной воды (pH – 7,8), содержащей ТМ и фенол в концентрациях, не превышавших предельно допустимые. Концентрация клеток холерных вибрионов в опытных пробах составляла 10⁹ кл/мл по отраслевому стандарту мутности (ОСО-42-25-59-86 П) ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России. Посевы инкубировали в аэробных условиях в течение 24 ч при 23 °С. Клетки после выращивания осаждали центрифугированием при 14000 об/мин в течение 10 минут на холоде и использовали для получения эфиров ЖК ранее описанным методом [11]. Метилловые и триметилсилильные эфиры ЖК анализировали методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) на приборе «Маэстро 2-7802» (ИнтерЛаб, Москва) при помощи коммерческой библиотеки масс-спектров NIST17. Содержание индивидуальных ЖК оценивали в относительных величинах (в процентах от общей суммы площадей пиков всех индивидуальных ЖК) и представляли в виде средних арифметических значений, полученных в трех экспериментах.

Математическую обработку данных осуществляли с помощью общепринятых методов статистики с применением пакета программ Microsoft Excel.

Для проведения попарных сравнений между культурами, выращенных в присутствии поллютантов, и соответствующими контрольными группами для каждого тестируемого соединения использовали t-критерий Стьюдента. Доверительный интервал был установлен на уровне 95% (P ≤ 0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение предельно допустимых концентраций поллютантов. Для изучения феномена толерантности и механизма, лежащего в основе адаптации клеток штаммов холерного вибриона к стрессу, индуцированному поллютантами, первоначально были определены предельно допустимые концентрации (ПДК), к которым были устойчивы отобранные штаммы возбудителя (табл. 1). Температура культивирования (23 °С) соответствовала средним значениям температуры воды в водоемах в осенне-летний период умеренных широт.

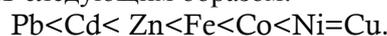
Таблица 1

Концентрации солей тяжелых металлов и фенола (ммоль/л), использованные для моделирования токсического стресса *V. cholerae* O1, O139, nonO1/nonO139 серогрупп

Штаммы <i>V. cholerae</i>	Cu	Zn	Co	Fe	Cd	Ni	Pb	Фенол
O1 Classical 680	2,5	12,5	5	10	15	2,5	22,5	2,5
O1 El Tor 18332	5	12,5	5	10	5	2,5	22,5	2,5
O1 El Tor P-20000	2,5	12,5	5	10	5	2,5	22,5	2,5
O139 16064	2,5	12,5	5	10	15	2,5	22,5	2,5
O139 17786	2,5	12,5	5	20	15	2,5	22,5	2,5
nonO1/nonO139 20173	2,5	12,5	5	10	15	10	22,5	2,5

Наиболее высокий уровень толерантности у большинства изученных штаммов отмечали в отношении ионов Pb (ПДК составляла 22,5 ммоль/л), а минимальный – в отношении Cu и Ni (2,5 ммоль/л). Наблюдали отличия между штаммами по характеру толерантности к Cd, Ni, Cu и Fe.

Действие солей ТМ на размножение холерного вибриона по мере их возрастания можно расположить следующим образом:



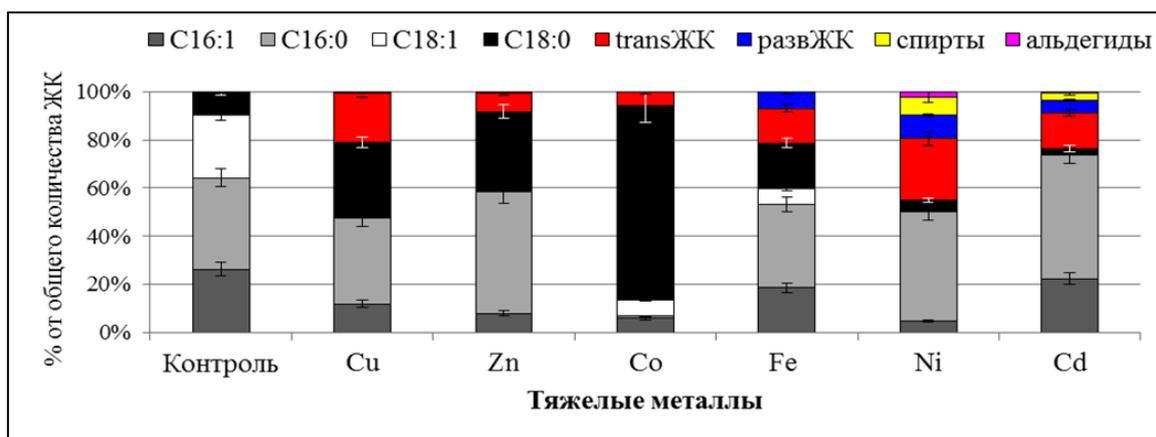
Влияние тяжелых металлов на спектры жирных кислот *V. cholerae*. У контрольных образцов штаммов *V. cholerae* методом ГХ-МС были детектированы следующие ЖК: тетрадекановая (C14:0), пентадекановая (C15:0), *cis*-гексадеценная (C16:1Δ7), гептадекановая (C17:0), *cis*-гептадеценная (C17:1Δ9), октадекановая (C18:0) и *cis*-октадеценная (C18:1Δ9; C18:1Δ11). Отмечен синтез незначительного количества разветвленных ЖК от 0,3 до 2%, представленных *iso*-гексадекановой (iC16:0), *anteiso*-пентадекановой

(aC15:0) и anteiso-гептадекановой кислотами (aC17:0). Анализ спектров ЖК показал преимущественное содержание гексадекановой (35,03±4,62%), гексадеценной (27,39±2,77%) и октадеценной ЖК (16,04±5,67%), суммарное количество которых в среднем составило 78,41±6,01% от всех ЖК.

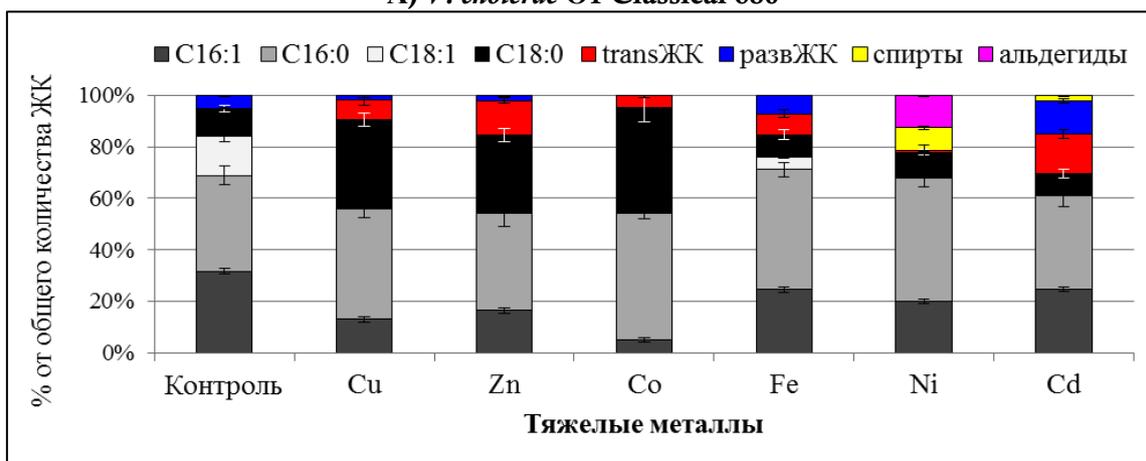
Через 24 часа инкубации в присутствии солей ТМ в профилях насыщенных (НЖК) и ненасыщенных жирных кислот (ННЖК) холерного вибриона были выявлены достоверные отличия относительно

контроля ($P \leq 0,05$). Причем реакция на ионы Cd и Ni отличалась от таковой на ионы Cu, Zn и Co.

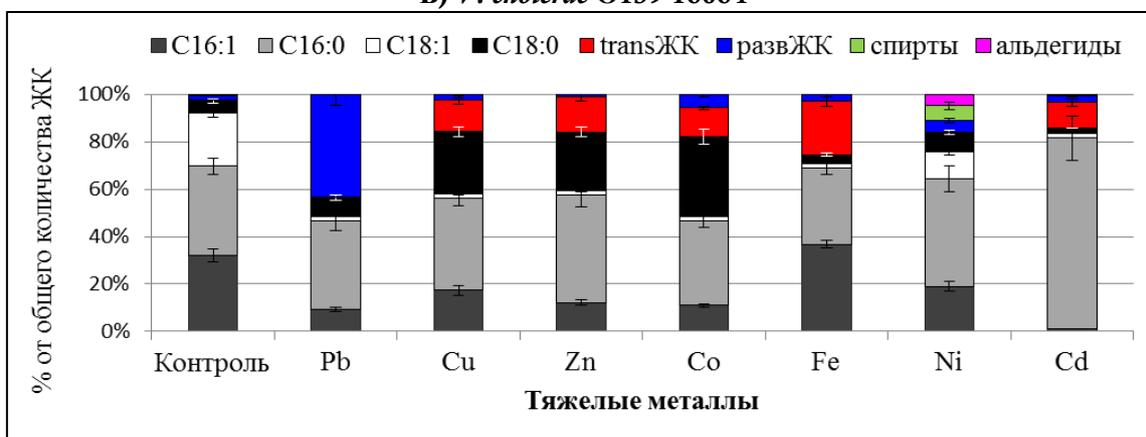
У всех штаммов, взятых в исследование, в ответ на присутствие в среде солей ТМ детектировано увеличение уровня сатурации фосфолипидов за счет синтеза линейных НЖК: гексадекановой и октадекановой, суммарное количество которых в условиях стресса достигало 80% и более (Рис. 1).



А) *V. cholerae* O1 Classical 680



Б) *V. cholerae* O139 16064



В) *V. cholerae* nonO1/nonO139 20173

Рис. 1. Спектры ЖК штаммов *V. cholerae* O1, O139, nonO1/nonO139 серогрупп в условиях стресса, индуцированного тяжелыми металлами.

Присутствие в среде Cu, Zn и Co приводило к увеличению сатурации за счет синтеза октадекановой кислоты, количество которой возрастало более чем в 4 раза ($P \leq 0,05$), а воздействие ионов Ni и Cd – к увеличению насыщенности мембраны за счет гексадекановой кислоты ($P \leq 0,05$). Параллельно отмечали снижение содержания, вплоть до полного исчезновения тетрадекановой, пентадекановой и гептадекановой ЖК, возможно, использованных в качестве субстрата ферментом элонгазой для синтеза более длинноцепочечных вариантов. Корреляция между увеличением степени насыщения мембранных липидов и повышенной толерантностью к токсичным соединениям установлена для других бактерий [12]. Считается, что этот процесс является одним из основных долгосрочных механизмов адаптации у микроорганизмов, подверженных воздействию токсичных соединений. Физиологическим следствием этих изменений является снижение текучести и проницаемости мембраны за счет более плотной упаковки ацильных остатков ЖК. Увеличение плотности и снижение проницаемости мембраны – важный механизм сохранения ее целостности, поскольку ТМ могут приводить к утечке необходимых клеткам питательных веществ, таких как калий, глутамат, вызывая дессикацию и последующую гибель клеток.

На основании профилей ЖК для каждого образца был рассчитан индекс насыщенности фосфолипидов (НЖК/ННЖК). Величина соотношения НЖК/ННЖК, рассчитанная для штаммов *V. cholerae* O1 Classical, O1 El Tor, O139, nonO1/nonO139, после роста на средах с тяжелыми металлами была выше по сравнению с контролем. Индекс насыщенности увеличивался с 0,9-2,32 до 2,1-30,25 при добавлении в среду солей Cu, Zn, Co и до 1,07-8,4 – при внесении солей Fe, Ni, Cd.

Однако синтез НЖК *de novo* является энергозатратным процессом, зависит от регуляции транскрипции, индукции анаболических путей и в ситуации, когда бактериальная клетка сталкивается с резкими изменениями окружающей среды (например, с высокими концентрациями токсичных веществ), приводящими к повышенной подвижности компонентов мембраны, сравнительно медленный синтез *de novo* ЖК не может быть применен. Поэтому первоначально активируются срочные механизмы реагирования, такие как *cis/trans*-изомеризация. Начиная с первых часов инкубации в присутствии солей ТМ у штаммов *V. cholerae*, взятых в исследование, детектировали синтез *trans*-изомеров ННЖК, содержание которых через 24 часа инкубации достигало 7-40% от всех детектированных в клетке ЖК. Данный механизм позволяет бактериям экстренно снижать текучесть и проницаемость клеточной мембраны в ответ на высокие концентрации токсикантов. Ранее активи-

зация данного механизма была выявлена зарубежными исследователями в ответ на кратковременное воздействие ионов мышьяка и наночастиц железа с нулевой степенью окисления [12, 13]. Примечательно, что при длительной инкубации в условиях металлостресса количество *trans*-изомеров снижалось, и на первое место выходили долгосрочные липидные модуляции, обусловленные синтезом НЖК *de novo*.

У всех штаммов возбудителя холеры, взятых в исследование, стресс в ответ на присутствие ионов Pb, Fe, Ni и Cd в среде сопровождался увеличением синтеза *anteiso*-разветвленных ЖК, количество которых возрастало до 4-25% от всех липидных компонентов. Включение монометил-разветвленных ЖК в мембранные липиды изменяет текучесть мембраны, толщину липидного бислоя и мембранозависимые функции, такие как окислительное фосфорилирование у бактерий. *Anteiso*-разветвленные ЖК повышают текучесть и уменьшают температуру фазового перехода липидных компонентов, используя *V. cholerae* в качестве альтернативы ННЖК, количество которых под действием ТМ снижается. Эта реакция противоположна той, которая обычно встречается у грамотрицательных бактерий в ответ на стресс, и реализуется через увеличение вязкости цитоплазматической мембраны. По всей видимости, холерные вибрионы используют другие механизмы толерантности к Pb, Fe, Ni и Cd. Учитывая, что детектированные разветвленные ЖК имеют в основном насыщенные алифатические цепи, более устойчивые к воздействию активных форм кислорода (АФК), можно предположить, что их синтез связан с ответной реакцией клетки на окислительный стресс, индуцируемый этими металлами. Данная гипотеза подтверждается образованием алифатических спиртов, альдегидов (длинноцепочечных и летучих), эпоксидов и оксикислот, которые известны как вторичные продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ). Установлено, что ряд ТМ восстанавливает молекулярный кислород до активных форм (H_2O_2 и $OH\cdot$), индуцируя тем самым окисление липидов. Хотя Cd не проявляет окислительно-восстановительную активность в биологических системах, он способствует увеличению продукции АФК через косвенные механизмы, такие как замена активных металлов в белках и активация NADPH-оксидаз. Альдегиды, образующиеся при окислении ЖК, вступают в реакцию с нуклеофильными мишенями в клетках, образуя как стабильные, так и нестабильные аддукты. Эта аддукция может нарушать клеточные функции, повреждать белки, нуклеиновые кислоты и липиды. С другой стороны, альдегиды участвуют в реакциях на абиотические стрессы, индуцируя экспрессию генов. Так, малоновый диальдегид, с одной стороны, является показателем повреждения клеток, запускает

процессы старения и апоптоза клеток, а с другой – может играть роль сигнальной молекулы, активируя регуляторные гены, участвующие в обеспечении клеточной защиты в условиях окислительного стресса [14]. Процесс восстановления альдегидов в алкоголе играет важную роль в снижении их токсического действия. Окисленные производные жирных кислот, оксипирины, регулируют процессы взаимодействия патоген-хозяин, реакции микроорганизмов на абиотические стрессы.

В ответ на действие ионов Cu, Zn, Ni и Cd у штаммов *V. cholerae* было выявлено образование стерина и их предшественников – сквалена, фарнезола и холестерола, хотя биосинтез стерина в первую очередь рассматривается как особенность эукариотических организмов и редко наблюдается у клеток прокариот. Существует ряд сообщений о биосинтезе стеролов различными видами бактерий. С другой стороны, бактерии, в том числе и *V. cholerae*, способны поглощать экзогенный холестерин и другие липиды, включая их в состав собственной мембраны [15]. Количество данных соединений в штаммах, взятых в исследование, достигало 4% от всех липидных компонентов. Бактериальные стеринины играют роль в модуляции текучести цитоплазматической мембраны аналогично той, что наблюдается для холестерина и эргостерола в эукариотических клетках. Изменяя биофизические свойства мембраны, стеринины придают клеткам возбудителя холеры устойчивость к токсическому стрессу. В эксперименте по экспрессии генов, проведенном у *Candida albicans*, синтез стерина обеспечивал защиту от окислительного стресса, вызванного перекисью водорода и

агентами, генерирующими супероксидные анионы [16]. Промежуточные продукты в путях биосинтеза стеролов могут действовать также и как сигнальные молекулы в ответ на абиотические стрессы, контролируя метаболические процессы, связанные с мембранами, путем образования специальных липидных структур, называемых микродоменами или липидными рафтами [17].

Влияние фенола на спектры жирных кислот *V. cholerae*. Неполарные и амфифильные органические загрязнители действуют непосредственно на цитоплазматическую мембрану. Интеркалируясь между гидрофобными ацильными цепями, они снижают температуру плавления, приводя к изменению текучести, микроструктуры мембраны, значительному нарушению ее физиологической функции, вплоть до гибели бактериальной клетки. Ароматические соединения, такие как фенол, бензол и катехол, повышают текучесть мембраны, увеличивая ее проницаемость. Клетки возбудителя холеры противодействуют этому эффекту с помощью ряда механизмов: сатурации фосфолипидов и *trans*-изомеризации НЖК. У штамма *V. cholerae* O1 Classical 680 и *V. cholerae* nonO1/nonO139 20173 увеличение степени насыщенности фосфолипидов осуществлялось за счет синтеза пальмитиновой кислоты, содержание которой возрастало в 2 раза ($P \leq 0,05$). У штамма *V. cholerae* O1 E1 Tor 18332 сатурация повышалась за счет синтеза длинноцепочечных ЖК: эйкозановой (C20:0) и докозановой (C22:0), которые присутствовали у контрольных вариантов в следовых количествах (Рис. 2).

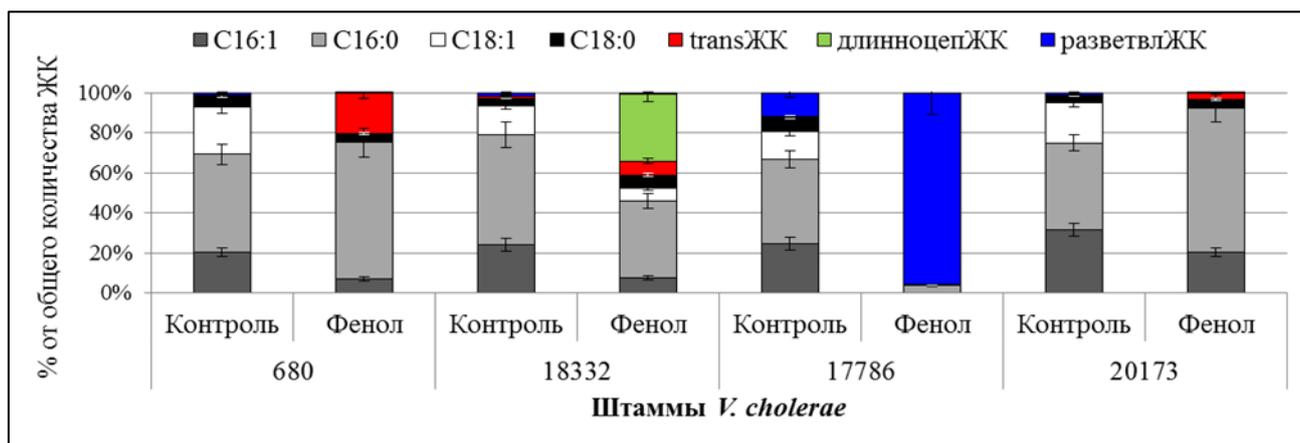


Рис. 2. Спектры жирных кислот штаммов *V. cholerae* O1, O139, nonO1/nonO139 серогрупп в условиях стресса, индуцированного фенолом.

Более плотная упаковка ацильных цепей в длинноцепочечных НЖК фосфолипидов увеличивает вязкость мембраны, снижает ее проницаемость и предотвращает накопление псевдоожигающих соединений в мембранной фракции. Инкубация вибрионов в присутствии фенола активировала механизм

trans-изомеризации, приводя к появлению пальмитэлаидиновой (штамм *V. cholerae* 680), элаидиновой (штаммы *V. cholerae* 680, 16064, 20173), а также несвойственных *V. cholerae trans*-эйкозановой и *trans*-тетракозановой кислот (штамм *V. cholerae* 18332).

Штаммы холерных вибрионов O139 серогруппы проявляли альтернативную реакцию на присутствие фенола в питательной среде, увеличивая синтез разветвленных НЖК (прежде всего, *anteiso*-пентадекановой). Причем у штамма *V. cholerae* O139 17786 *anteiso*-изомеры НЖК составляли основной пул липидных компонентов, достигая 90% от всех ЖК, на фоне значительного снижения линейно-цепочечных вариантов – с 60% до 4% ($P \leq 0,05$). Аналогичную реакцию на органические поллютанты описали в 1996 г. Weber F.J. и de Bont J.A.M. в работе «Adaptation mechanisms of microorganisms to the toxic effects of organic solvents on membranes» у *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas veronii* при отсут-

ствии процессов *trans*-изомеризации. Вероятно, вследствие окислительной деградации ННЖК в условиях токсического стресса клетка пытается сохранить жидкокристаллическое состояние мембраны путем синтеза этой группы ЖК.

Влияние поллютантов на метаболом *V. cholerae*. Помимо ремоделирования ЖК состава липидов под действием поллютантов, были отмечены изменения и в метаболоме клеток *V. cholerae*: накопление аминокислот, органических кислот, глицерина, полиаминов, фенольных соединений, сахаров (табл. 2).

Таблица 2

Соединения, накапливаемые клетками *V. cholerae* в ответ на стресс, индуцируемый поллютантами

Соединение	Cu	Zn	Co	Fe	Ni	Cd	Pb	Фенол
Аминокислоты	L-Глутамин L-Пролин	L-Аланин L-Пролин	L-Аланин L-Треонин	Глицин	Глицин	Бензоилглицин Саркозин	Саркозин	Бензоилглицин
Органические кислоты	Малоновая Янтарная Молочная Гликолевая	Этанпероксоевая, Молочная Азелаиновая	Щавелевая Янтарная Молочная Гликолевая	Гликолевая Малоновая	Щавелевая Фумаровая	Глутаровая	Фумаровая Глутаровая	Малоновая
Углеводы	-	α -D- Глюкопиранозид 1-O- Маннопираноза	-	α -D-Глюкопиранозид	α -D- Глюкопиранозид	Галактоза	-	-
Фенольные соединения	Фенилбутаноат	Фенилацетат Бензенацетат Бензенпропаноат Фенилбутаноат	Фенилацетат Фенилпропаноат	Фенилпропаноат	Фенилпропаноат Фенилпропаноат Бутилрезорцинол Гидроксициннамат	Фенилпропаноат Салицилат Гидроксициннамат	-	-
Амины	-	-	-	-	-	Путресцин	-	-
Полиолы	-	Глицерин	-	-	Глицерин	-	-	-

Своевременная активация метаболических реакций помогает клеткам выровнять химический и энергетический дисбаланс, вызванный стрессом, и имеет решающее значение для адаптации и персистенции. Известно, что аминокислоты играют важную роль в антиоксидантной защите прокариотических клеток во время абиотических стрессов. Органические кислоты совместно с аминокислотами участвуют в детоксикации ТМ и ксенобиотиков за счет вне- и внутриклеточного хелатирования [18]. Фенольные соединения защищают микроорганизмы от окислительного стресса, усиливают процесс хелатирования металлов. Полиамины, взаимодействуя с фосфолипидами, блокируют порины и снижают проницаемость мембран, защищая клетки от проникновения токсических веществ, высоких концентраций гидроксильных радикалов. Это часто сопровождается замедлением скорости пролиферации и метаболизма, что приводит к формированию клеткоперсистеров, характеризующихся высоким уровнем толерантности к токсикантам [19]. Нельзя исклю-

чить, что подобные механизмы адаптации/персистенции реализуются и у возбудителя холеры в условиях токсического стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенного исследования выявлены статистически значимые изменения в спектрах ЖК штаммов *V. cholerae* O1, O139 и nonO1/nonO139 серогрупп под влиянием поллютантов. Показано, что, независимо от набора детерминант патогенности и источника выделения, модификация ЖК состава штаммов *V. cholerae* под действием ТМ носила аналогичный характер. Инкубация с фенолом вызывала у *V. cholerae* альтернативные реакции: штаммы O1 серогруппы реагировали на присутствие фенола синтезом *trans*ННЖК и длинноцепочечных ЖК, тогда как штаммы O139 серогруппы – синтезом *anteiso*-разветвленных ЖК. Добавление поллютантов в питательную среду стиму-

лировало накопление в клетках аминокислот, полиолов, аминов, сахаров и органических кислот.

Специфические изменения в липидоме и метаболоме клетки в ответ на действие поллютантов мо-

гут увеличивать адаптационный потенциал холерного вибриона, способствуя сохранению возбудителя в объектах окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ткаченко О.В., Ткаченко А.Н., Лычагин М.Ю. Содержание тяжелых металлов в водных объектах дельты Дона: сезонная и пространственная динамика. Геология, география и глобальная энергия. 2016; 2 (61): 76-84. [Tkachenko O.V., Tkachenko A.N., Lychagin M.Yu. Content of heavy metals in water objects of the delta of Don: seasonal and spatial dynamics. Geology, geography and global energy. 2016; 2 (61): 76-84. (In Russ)]. doi.org/10.21672/2077-6322-2016-61-2-076-084
2. Рыжаков А.Н., Мартынов Д.В. Оценка степени загрязнения донных отложений малых рек Ростовской области. Экология и водное хозяйство. 2021; 2: 29-39. [Ryzhakov A.N., Martynov D.V. Assessment of the degree of pollution of bottom sediments in small rivers of Rostov region. Ecology and water management. 2021; 2: 29-39. (In Russ)]. doi: 10.31774/2658-7890-2021-3-2-29-39
3. Begg S. The role of metal ions in the virulence and viability of bacterial pathogens. Biochem. Soc. Trans. 2019; 47 (1.1): 77-87. doi.org/10.1042/BST20180275
4. Righetto R., Anton L., Adaixo R., et al. High-resolution cryo-EM structure of urease from the pathogen *Yersinia enterocolitica*. Nat. Commun. 2020; 11 (I.5101): 51 p. doi.org/10.1038/s41467-020-18870-2
5. Чекнев С.Б., Вострова Е.И., Кисиль С.В. и др. Механизмы бактерицидного действия в реализации общих антибактериальных эффектов катионов металлов в культуре *Streptococcus pyogenes*. Журнал микробиологии. 2018; 2: 3-9. [Cheknev S.B., Vostrova E.I., Kisil S.V. et al. The mechanisms of bactericidal action impact in common antibacterial effects of metal cations in the culture of *Streptococcus pyogenes*. Journal of Microbiology. 2018; 2: 3-9. (In Russ)].
6. Dercová K., Murínová S., Dudášová H., et al. The adaptation mechanisms of bacteria applied in bioremediation of hydrophobic toxic environmental pollutants: how indigenous and introduced bacteria can respond to persistent organic pollutants-induced stress? // From the Edited Volume Persistent Organic Pollutants, Edited by Stephen Kudom Donyinah. 2018; 108 p. doi:10.5772/intechopen.79646
7. Palmer L.D., Skaar E.P. Transition Metals and Virulence in Bacteria. Annu Rev. Genet. 2016; 50: 67-91. doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035146
8. Hea R., Zuo Y., Zhao L., et al. Copper stress by nutritional immunity activates the CusS-CusR two-component system that contributes to *Vibrio alginolyticus* anti-host response but affects virulence-related properties. Aquaculture. 2021; 532: 736012. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736012
9. Kotijani M., Eghbalpour F., Lari E., et al. Developing erythromycin resistance gene by heavy metals, Pb, Zn, and Co, in aquatic ecosystems. Sci Rep. 2022; 12 (I.20797): 9 p. doi.org/10.1038/s41598-022-25272-5
10. Бузолева Л.С., Богатыренко Е.А., Ким А.В. Влияние тяжелых металлов на факторы патогенности у возбудителей сапрозоонозов. Фундаментальные исследования. 2013;10 (14); 3076-3079. [Buzoleva L.S., Bogatyrenko E.A., Kim A.V. Influence of heavy metals on pathogenicity factors in pathogens of saprozooses. Fundamental research. 2013;10 (14); 3076-3079. (In Russ)].
11. Шипко Е.С., Дуванова О.В. Влияние температурного стресса на спектр жирных кислот штаммов *Vibrio cholerae*. Вестник Пермского университета. Серия Биология. 2022; 2: 143-154. [Shipko E.S., Duvanova O.V. Influence of temperature stress on the spectrum of fatty acids of *Vibrio cholerae* strains. Bulletin of Perm University. Biology series. 2022; 2: 143-154. doi.org/10.17072/1994-9952-2022-2-143-154
12. Ghosh D., Bhadury P., Routh J. Coping with arsenic stress: Adaptations of arsenite-oxidizing bacterial membrane lipids to increasing arsenic levels. Microbiology Open. 2018; 7 (I.5): 13 p. doi.org/10.1002/mbo3.594
13. Kotchaplai P., Eakalak Khan E., and Vangnai A. Membrane alterations in *Pseudomonas putida* F1 exposed to nanoscale zerovalent iron: effects of Short-Term and Repetitive nZVI Exposure. Environ. Sci. Technol. 2017; 51 (I.14): 7804-7813. doi.org/10.1021/acs.est.7b00736
14. Ayala A., Muñoz M.F., and Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2014: 1-31. doi.org/10.1155/2014/360438
15. Chatterjee R., Chowdhury A., Mukherjee D., Chakravorty D. Lipid larceny: channelizing host lipids for establishing successful pathogenesis by bacteria. Virulence. 2021; 12 (I.1): 195-216. doi.org/10.1080/21505594.2020.1869441
16. Budin I., Rond T., Chen Y., et al. Viscous control of cellular respiration by membrane lipid composition. Scienc. 2018; 362 (I.6419): 1186-1189. doi.org/10.1126/science.aat7925

17. Kulkarni R., Wiemer E., Chang W. Role of Lipid Rafts in Pathogen-Host Interaction - A Mini Review. *Front. Immunol.* 2022; 12: 1-11. doi.org/10.3389/fimmu.2021.815020
18. Osmolovskaya N., Dung V.V., Kuchaeva L. The role of organic acids in heavy metal tolerance in plants. *BIOLOGICAL COMMUNICATIONS.* 2018; 63 (I.1): 9-15. doi.org/10.21638/spbu03.2018.103
19. Ткаченко А.Г., Хаова Е.А., Кашеварова Н.М. и др. Роль полиаминов в регуляции бактериальной персистенции. *Вестник Пермского федерального исследовательского центра.* 2020; 2: 36-47. [Tkachenko A.G., Khanova E.A., Kashevarova N.M., etc. The role of polyamines in the regulation of bacterial persistence. *Bulletin of the Perm Federal Research Center.* 2020; 2: 36-47. (In Russ)]. Doi:10.7242/2658-705X/2020.2.4

Поступила в редакцию журнала 13.06.23

Принята к печати: 19.06.23



Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова
Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина
Адрес редакции: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28. Тел.: (812) 303-51-45, факс (812) 510-62-77
E-mail: mycobiota@szgmu.ru, elena.gukova@szgmu.ru. Заведующая редакцией: Е.С.Гукова.

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov
Kashkin Research Institute of Medical Mycology
Address of Editorial Office: Santiago-de-Cuba str., 1/28, Saint Petersburg, 194291, RUSSIA.
Tel.: (812) 303-51-45, Fax (812) 510-62-77
E-mail: mycobiota@szgmu.ru, elena.gukova@szgmu.ru. Manager of Editorial Office: E.S.Gukova

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Reg. № 77-1396 от 20.12.1999 г. ISSN 1999-6780

Журнал зарегистрирован ВАК, с 2005 г. включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), в реферативный журнал и базы ВИНТИ. Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».

Оригинал-макет — НИИ «Медицинской микологии им. П. Н. Кашкина СЗГМУ».

Подписано в печать 09.10.2023 г.