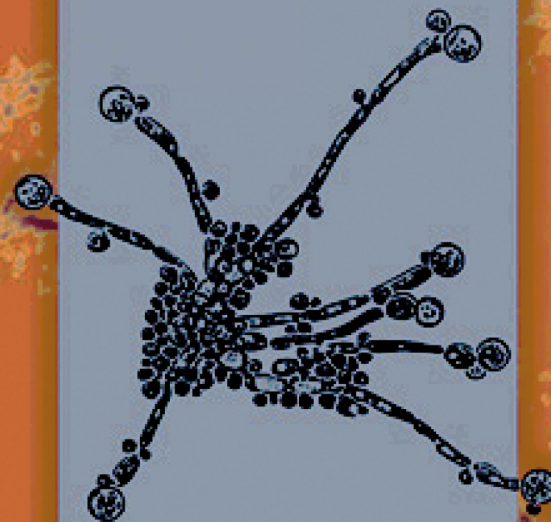


ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 23 №1



Problems in medical mycology

Vol.23 №1

2021

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

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

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

Deputies Chief Editor —

N.N. Klimko — M.D., prof. (Russia)

A.E. Taraskina — Ph.D. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

Manager of Editorial Office —

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

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

Bennett J. — M.D. (USA), Dupont B. — M.D. (France), Hurzilava O.G. — M.D., prof. (Russia), Golubev V.I. — Ph.D. (Russia), Kashkin K.P. — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Kolbin A.C. — M.D., prof. (Russia), Mazurov V.I. — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Ozerskaya S.M. — Ph.D. (Russia), Polachek I. — M.D. (Israel), Samzov A.V. — M.D., prof. (Russia), Sidorenko S.V. — M.D., prof. (Russia), 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. 23, № 1, 2021

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

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

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 23, № 1, 2021

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

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

Заместители главного редактора:

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

А.Е. Тараскина — к.б.н. (Россия)

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

Зав. редакцией —

Е.С. Гукова (elena.gukova@szgmu.ru)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беннетт Дж. — доктор медицины (США), Вивиани М.А. — доктор медицины (Италия), Голубев В.И. — д.б.н. (Россия), Б. Дюпон — доктор медицины (Франция), Кашкин К.П. — д.м.н., академик РАМН, профессор (Россия), Колбин А.С. — д.б.н., профессор (Россия), Мазуров В.И. — д.м.н., акад. РАМН, профессор (Россия), Озерская С.М. — д.б.н. (Россия), Полачек И. — доктор медицины (Израиль), Самцов А.В. — д.м.н., профессор (Россия), Сидоренко С.В. — д.м.н., профессор (Россия), 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), Шульгина М.В. — д.б.н. (Россия), Ямагучи М. — доктор медицины (Япония)

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

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

Фролова Е.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.В., Пономаренко В.А., Борзова Ю.В., Шурпицкая О.А., Тараскина А.Е., Гайковская Л.Б., Федоренко А.С., Гомонова В.В., Латария Э.Л., Васильева Н.В. Иммунологические особенности пациентов с Covid-19 в зависимости от степени тяжести заболевания.....	3
---	---

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

Хостелиди С.Н., Михайлова И.А., Богомоллова Т.С., Игнатъева С.М., Пчелин И.М., Чилина Г.А., Тараскина А.Е., Васильева Н.В., Клишко Н.Н. Диссеминированный мукормикоз, обусловленный <i>Lichtheimia ornata</i> . Описание клинического случая и обзор литературы	14
Боровицкий В.С. Кандидоз желудочно-кишечного тракта – важный предиктор неблагоприятного исхода у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией	20
Имамов О.С., Абдувахитова И.Н., Тохтаев Г.Ш., Джумаев Н.Д. Клинико-эпидемиологическая характеристика и цитокиновый статус у больных зооантропонозной трихофитией.	25
Корнишева В.Г., Раводин Р.А., Чипан Л.Л., Прудникова Д.Ю. Случай мультисистемного гистиоцитоза из клеток лангерганса у взрослого пациента.....	33
Курганская И.Г., Черкашина И.В., Ключарева С.В. Лечебные эффекты высокоинтенсивной лазеротерапии келоидных рубцов	40

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

Рябинин И.А., Ковыршин С.В., Бузмакова А.Л., Васильева Н.В. Особенности белков – адгезинов <i>Mucor lusitanicus</i> и <i>Aspergillus clavatus</i> в сравнении с адгезинами некоторых микромицетов и бактерий.....	46
Ковыршин С.В., Богомоллова Т.С., Чилина Г.А. Образование гигантских клеток штаммами грибов рода <i>Lichtheimia</i> , выделенными от больных мукормикозом.	53

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

Медведева Т.В., Лейна Л.М. XXIX Конгресс Европейской Академии Дерматовенерологии (EADV).....	57
--	----

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

Frolova E.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Ponomarenko V.A., Borzova Y.V., Shurpitskaya O.A., Taraskina A.E., Gaikovaya L.B., Fedorenko A.S., Gomonova V.V., Latariia E.L., Vasilyeva N.V. Immunological features of patients with COVID-19 depending on the severity of the disease.....	3
--	---

CLINICAL MYCOLOGY

Khostelidi S.N., Miklaylova I.A., Bogomolova T.S., Ignatyeva S.M., Pchelin I.M., Chilina G.A., Taraskina A.E., Vasilieva N.V., Klimko N.N. Disseminated mucormycosis caused by <i>Lichtheimia ornata</i> . Clinical case description and literature review.....	14
Borovitsky V.S. Gastrointestinal candidiasis is an important predictor of poor outcome in HIV-infected tuberculosis patients.....	20
Imamov O.S., Abduvakhitova I.N., Tokhtaev G.Sh., Dzumaev N.D. Clinical-epidemiological characteristics and cytokine status in patients with zoonanthropous trichophytosis.	25
Kornisheva V.G., Ravodin R.A., Chipan L.L., Prudnikova D.Yu. Case of multisystemic langerhans cell histiocytosis in adult patient.....	33
Kurganskaya I.G., Cherkashina I.V., Kluchareva S.V. Therapeutic effects of high-intensity laser therapy of keloid scars.....	40

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

Ryabinin I.A., Kovyrshyn S.V., Buzmakova A.L., Vasilyeva N.V. Features of <i>Mucor lusitanicus</i> and <i>Aspergillus clavatus</i> adhesive proteins in comparison with adhesins of some micro-mycetes and bacteria.....	46
Kovyrshin S.V., Bogomolova T.S., Chilina G.A. Giant cells formation in <i>Lichtheimia</i> spp. isolates from patients with mucormycosis.	53

CHRONICLE AND INFORMATION

Medvedeva T.V., Leina L.M. XXIX Congress of European Academy of Dermatology and Venerology (EADV).....	57
--	----

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Фролова Е.В. (зав. НИЛ)*, Филиппова Л.В. (ассистент кафедры, с.н.с.), Учеваткина А.В. (с.н.с.), Пономаренко В.А. (студент), Борзова Ю.В. (зав. клиникой, доцент кафедры), Шурпицкая О.А. (зав. КДЛ), Тараскина А.Е. (зам. директора по науке, зав. НИЛ), Гайковская Л.Б. (зав. ЦКДЛ, зав. кафедрой), Федоренко А.С. (зам. главного врача), Гомонова В.В. (зам. главного врача), Латария Э.Л. (главный врач), Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

COVID-19 (Coronavirus disease 2019) – это инфекционное заболевание, вызываемое новым β -коронавирусом, который называется коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 – SARS-CoV-2). Первый случай заражения SARS-CoV-2 был зарегистрирован в декабре 2019 г. в Ухане, Китай и быстро распространился по всему миру. В ответ на инфицирование SARS-CoV-2 развиваются защитные реакции, обусловленные активацией врожденного и приобретенного иммунитета. Особенности иммунного ответа больных COVID-19 в зависимости от тяжести течения заболевания изучены недостаточно. Нами проведено исследование иммунологических показателей 30 пациентов с COVID-19 через 23,0 дня (22,0-28,0) после госпитализации. Установлено снижение способности клеток крови больных COVID-19 к продукции IFN- α и IFN- γ и уменьшение числа NK-клеток по сравнению с показателями контрольной группы. Особенностью иммунного профиля пациентов с тяжелым течением COVID-19 было снижение абсолютного числа CD8⁺T-клеток, T-регуляторных клеток (Treg), уровней обших IgG и IgM по сравнению с контрольными значениями; достоверно более низкое количество CD4⁺T-клеток, CD8⁺T-клеток, Treg, уровней обших IgG и IgM по сравнению с показателями пациентов со среднетяжелой формой заболевания. Полученные данные свидетельствуют о состоянии иммуносупрессии на поздних сроках инфекционного процесса, обусловленного SARS-CoV-2, особенно у больных с тяжелым течением болезни.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2, COVID-19, субпопуляции лимфоцитов, интерфероны, антитела

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

IMMUNOLOGICAL FEATURES OF PATIENTS WITH COVID-19 DEPENDING ON THE SEVERITY OF THE DISEASE

Frolova E.V. (head of the laboratory), Filippova L.V. (assistant of the department, senior scientific researcher), Uchevatkina A.E. (senior scientific researcher), Ponomarenko V.A. (student), Borzova Y.V. (head of the clinic, associate professor of the department), Shurpitskaya O.A. (head of the laboratory), Taraskina A.E. (deputy director for science, head of the laboratory), Gaikovaya L.B. (head of the laboratory), Fedorenko A.S. (deputy chief physician), Gomonova V.V. (deputy chief physician), Latariia E.L. (chief physician), Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

COVID-19 (Coronavirus disease-2019) is an infectious disease caused by a new β -coronavirus called severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2). The first case of SARS-CoV-2 infection was reported in December 2019 from Wuhan, China, and rapidly became a pandemic disease around the world. In response to infection with SARS-CoV-2 develop protective reactions caused by activation of innate and acquired immunity. Features of the immune response of patients COVID-19, depending on the severity of the disease have not been studied sufficiently. We conducted a study of the immunological parameters of 30 patients with COVID-19 in 23.0 days (22.0-28.0) after hospitalization. There was a decrease in the ability of blood cells of patients with COVID-19 to produce IFN- α and IFN- γ and a decrease in the number of NK cells compared to the control group. A feature of the immune profile of patients with severe COVID-19 was a decrease in the absolute number of CD8⁺ T-cells, T-regulatory cells (Treg), levels of total IgG and IgM compared to control values; significantly lower number of CD4⁺ T-cells, CD8⁺ T-cells, Treg, levels of total IgG and IgM in comparison with the indicators of patients with a moderate form of the disease. The data obtained indicate the state of immunosuppression in the late stages of the infectious process caused by SARS-CoV-2, especially in patients with a severe course of the disease.

Key words: new coronavirus infection, SARS-CoV-2, COVID-19, lymphocyte subpopulations, interferons, antibodies

ВВЕДЕНИЕ

Вспышка новой коронавирусной инфекции началась в городе Ухань китайской провинции Хубэй в декабре 2019 г. [1]. Быстрое распространение инфекции по всему миру привело к резкому обострению эпидемиологической обстановки в различных странах. Международный комитет по таксономии вирусов 11 февраля 2020 г. присвоил офици-

альное название возбудителю инфекции – SARS-CoV-2. Всемирная Организация Здравоохранения ВОЗ определила официальное название инфекции, вызванной новым коронавирусом, – COVID-19 [2].

Коронавирусы (Coronaviridae) – это большое семейство РНК-содержащих вирусов, способных инфицировать человека и некоторых животных. Новый коронавирус SARS-CoV-2 представляет собой одноцепочечный, положительно заряженный РНК-содержащий вирус рода *Betacoronavirus*, отнесенный ко II группе патогенности, как и его предшественники вирусы SARS-CoV и MERS-CoV. Установлено до 79% гомологии нуклеотидной последовательности РНК нового коронавируса с его предшественником SARS-CoV [3].

Известно, что передача инфекции осуществляется преимущественно воздушно-капельным, реже – контактным путем. Инкубационный период длится от 2 до 14 дней, и вирус легко передается от инфицированного лица здоровому человеку. При аэрозольном попадании SARS-CoV-2 происходит инфицирование альвеолярных эпителиальных клеток I и II типа, экспрессирующих ангиотензин-превращающий фермент II типа (АПФ-2). Клеточная трансмембранная сериновая протеаза типа 2 (ТСП2) способствует связыванию вируса с АПФ-2, активируя его S-протеин, необходимый для проникновения SARS-CoV-2 в клетку. В соответствии с современными представлениями, АПФ2 и ТСП2 представлены на поверхности различных клеток органов дыхания, пищевода, кишечника, сердца, надпочечников, мочевого пузыря, головного мозга (гипоталамуса) и гипофиза, а также эндотелия и макрофагов [4-6]. В настоящее время ясно, что существует тесное взаимодействие между вирусом SARS-CoV-2 и иммунной системой человека, приводящее к разнообразным клиническим проявлениям заболевания [7, 8]. При этом в 80% случаев инфекция может протекать бессимптомно или в виде легких форм. Примерно у 15% больных развивается тяжелая пневмония, а у около 5% – острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) и полиорганная недостаточность [9, 10].

В настоящее время продолжается интенсивное изучение клинических и эпидемиологических особенностей заболевания, разработка новых средств по профилактике и лечению [11]. Однако иммунопатогенез различных форм COVID-19 изучен недостаточно. В ответ на инфицирование SARS-CoV-2 развиваются защитные реакции, обусловленные механизмами врожденного и приобретенного иммунного ответа. Особенностью реакции системы врожденной защиты при SARS-CoV-2 является формирование чрезмерного воспалительного ответа на фоне низкого уровня интерферонов (IFN) I и III типов [6, 12]. По современным представлениям, вирус блокирует

или снижает продукцию интерферонов на этапе неконтролируемой вирусной репликации. В ответ на проникновение вируса эпителиоциты легких и альвеолярные макрофаги запускают синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые привлекают в очаг воспаления нейтрофилы и Т-лимфоциты, что приводит к высвобождению значительного количества иммунологических медиаторов. Таким образом, механизмы врожденного иммунного ответа направлены на формирование воспалительной среды для уничтожения SARS-CoV-2, но чрезмерный характер ответной реакции обуславливает необратимое поражение тканей [7, 13]. По мере развития иммунного ответа происходит презентация антигена Т-клеткам, и включаются механизмы адаптивного иммунитета примерно к 7-14 суткам болезни [7, 10]. Данные об адаптивных иммунных реакциях при COVID-19 ограничены. Считают, что ведущая роль в защите от новой коронавирусной инфекции принадлежит Th1/Th17 клеткам, а специфические антитела к SARS-CoV-2 способствуют нейтрализации вируса [8, 14]. Наличие вторичной иммунологической недостаточности у лиц с хронической сопутствующей патологией обуславливает устойчивую репликацию вируса и более тяжелое течение COVID-19 [12].

Установлено, что при тяжелых формах COVID-19 у больных повышено число нейтрофилов, при этом увеличение отношения нейтрофилов к лимфоцитам связано с плохим прогнозом заболевания [11, 15]. В большинстве случаев у пациентов с тяжелым течением COVID-19 отмечали лимфоцитопению со снижением числа CD4⁺Т-хелперов, цитотоксических CD8⁺ Т-клеток, В-лимфоцитов и естественных киллеров [16-18]. Подавление системы IFN при коронавирусной инфекции связывают с тяжестью клинических проявлений заболевания. Обнаружено снижение числа IFN- γ CD4⁺Т-хелперов и гранзим В⁺перфорин⁺CD8⁺ Т-клеток у пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровыми донорами [19]. Напротив, экспрессия маркеров функционального истощения PD-1 («Programmed cell death-1» – лиганд рецептора программируемой клеточной гибели-1) на Т-клетках больных с тяжелой формой COVID-19 была значительно выше по сравнению с Т-клетками, выделенными от пациентов с легкой формой заболевания или от здоровых доноров [19, 20]. Взятые вместе, эти данные указывают на сложные механизмы взаимодействия SARS-CoV-2 с клетками иммунной системы. Недостаток проведенных исследований заключается в отсутствии оценки способности клеток крови к продукции интерферонов, а также в том, что не установлена взаимосвязь уровней интерферонов с другими иммунологическими показателями.

Цель работы – изучение субпопуляционного состава лимфоцитов, уровней иммуноглобулинов и способности клеток крови больных COVID-19 к

продукции интерферонов в зависимости от тяжести течения заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование включили 30 больных COVID-19. Среди обследованных было 43% мужчин и 57% женщин в возрасте от 32 до 88 лет (медиана – 62 года). Группу сравнения составили 25 условно здоровых людей в возрасте от 21 до 68 лет (медиана – 43 года): 47% мужчин и 53% женщин.

Все пациенты находились в стационаре в Центре по лечению больных новой коронавирусной инфекцией на базе клиники Петра Великого Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. Больные COVID-19 были разделены на две группы в зависимости от тяжести течения заболевания [21]. В первую группу включили 12 пациентов с COVID-19, у которых было диагностировано среднетяжелое течение болезни, во вторую группу – 18 человек с тяжелым течением. Диагноз COVID-19 был установлен на основании положительного результата лабораторного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2 с применением методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК).

Клинический анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе DxH-800 (Beckman Coulter, США). Ферритин определяли с помощью биохимического автоматического анализатора AU-480 (Beckman Coulter, США), С-реактивный белок – на биохимическом автоматическом анализаторе Cobas Integra 400+ (Roche, Швейцария), фибриноген и D-димер – на анализаторе гемостаза STA-Compact (Stago, Франция). При подозрении на развитие цитокинового шторма выявляли содержание интерлейкина-6 (IL-6) на иммунохимическом электрохемилюминесцентном анализаторе Cobas e411 (Roche, Швейцария).

Иммунологическое обследование проводили через 23,0 дня (22,0-28,0) после госпитализации. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови было выполнено методом 6-цветного цитофлуориметрического анализа с использованием проточного цитометра Navios™ (Beckman Coulter, США). Подготовку образцов периферической крови и настройку цитофлуориметра проводили в соответствии с национальными рекомендациями [22]. Лимфоциты окрашивали мечеными флуорохромами моноклональными антителами (Beckman Coulter, США) в соответствии с рекомендациями 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 переме-

шивании добавляли 500 мкл лизирующего раствора VersaLyse Lysing Solution (Beckman Coulter, США), инкубировали еще 10 минут при комнатной температуре в защищенном от света месте. При цитометрическом анализе для каждого из образцов набирали не менее 5000 лимфоцитов. Полученные результаты были проанализированы при помощи 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 (Трег) проводили также 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 надосадок и восстанавливали лейкоцитарную взвесь в 400 мкл ФСБ. При цитометрическом анализе популяцию $CD4^+$ Т-хелперов на основании позитивного/ негативного гейтирования разделяли на $CD4^+CD25^+CD127^-$ Трег и $CD4^+CD25^+CD127^+$ Т-хелперы активированные, получая их относительное (%) количество.

Для исследования спонтанной и индуцированной продукции IFN- γ и IFN- α использовали гепаринизированную кровь, разведенную в 5 раз полной питательной средой (ППС): среда RPMI 1640 с добавлением L-глутамин (Биолот, Россия), 200 мкг/мл гентамицина и 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Биолот, Россия). Для индуцированной продукции интерферонов в лунки планшета вносили по 100 мкл разведенной крови и, соответственно, добавляли 100 мкл рабочего раствора фитогемагглютинина-II (ФГА-II) (ПанЭко, Россия) в конечной дозе 25 мкг/мл или 5 мкл вируса болезни Ньюкасла (цитолитический титр – 1/256, ФГУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева, Россия). Планшеты с исследуемыми образцами культивировали при 37 °С в атмосфере 5% CO₂ в CO₂-инкубаторе (Sanyo MCO-5 AC, Япония). Через 24 часа супернатанты отбирали и хранили при -20 °С. Концентрацию интерферонов в супернатантах определяли с помощью коммерческих иммуноферментных тест-систем в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя (Вектор-Бест, Россия). Измерения оптической плотности проводили с использованием планшетного фотометра (HumaReader HS, Германия).

Уровень общих иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови исследовали иммунотурбодиметрическим методом с применением коммерческих наборов (Vital, Россия). Иммуноглобулины класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG» (Научно-производственная фирма ЛИТЕХ, Россия), предназначенного для качественного выявления иммуноглобулинов. Иммуноглобулины класса М к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке крови определяли с помощью набора реагентов «SARS-CoV-2-IgM-ИФА БЕСТ» (Вектор-Бест, Россия), предназначенного для качественного выявления методом иммуноферментного анализа. Содержание иммуноглобулинов класса М и G к коронавирусу SARS-CoV-2 расценивали как положительное при КП (индекс антител) $\geq 1,1$.

Полученные результаты обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA for Windows (версия 10). Данные представляли в виде медианы (Me) нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го перцентилей, Lq и Hq). Для оценки различий между независимыми выборками применяли непараметрический критерий Манна-Уитни, зависимыми выборками – критерий Вилкоксона. Корреляционный анализ показателей проводили методом Спирмана. Достоверными различиями сравниваемых параметров считали значения $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование были включены 12 человек со среднетяжелым и 18 – с тяжелым течением COVID-19. Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями в обеих группах больных были: патология сердечно-сосудистой системы (40% и 64%), ожирение (40% и 21%), сахарный диабет (20% и 21%) и хронические заболевания желудочно-кишечного тракта (30% и 29%) соответственно. По данным КТ, у всех пациентов выявлена двусторонняя пневмония.

Клинико-лабораторное обследование больных выполнено в течение первых дней после госпитализации. Не установлено статистически значимых различий в абсолютном количестве лейкоцитов в обеих группах пациентов по сравнению с контрольными показателями ($5,05 \times 10^9/\text{л}$ (4,20-6,35) и $5,9 \times 10^9/\text{л}$ (4,40-11,00) vs $5,70 \times 10^9/\text{л}$ (5,30-6,30), $p=0,1141$ и $p=0,6647$ соответственно). Определено снижение абсолютного числа лимфоцитов у лиц с COVID-19 по отношению к контрольным значениям ($1,00 \times 10^9/\text{л}$ (0,85-1,15) и $0,90 \times 10^9/\text{л}$ (0,65-1,20) vs $1,98 \times 10^9/\text{л}$ (1,89-2,28), $p=0,0001$ и $p=0,0000$ соответственно). У пациентов с тяжелым течением COVID-19 обнаружено достоверно более высокое число нейтрофилов по сравнению с показателями условно здоровых лю-

дей ($5,01 \times 10^9/\text{л}$ (3,03-9,26) vs $3,07 \times 10^9/\text{л}$ (2,75-3,78), $p=0,0183$).

У всех больных, включенных в исследование, установлено повышенное содержание С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови по сравнению с референсными значениями (табл. 1).

Таблица 1

Лабораторные показатели пациентов с COVID19 в зависимости от тяжести течения заболевания

Показатели	Референсные значения	Среднетяжелое течение n=12	Тяжелое течение n=18
СРБ (мг/л)	0 - 5	44,76 (15,8 - 73,22) p=0,0043	115,01 (61 - 151,11)
Фибриноген (г/л)	2 - 4	4,53 (3,86 - 5,18) p=0,0189	6,46 (5,78 - 6,80)
Ферритин (мкг/л)	10-120	484,85 (271,3 - 598,8)	889,6 (412 - 1117)
D-димер (мкг/мл)	0 - 0,44	0,31 (0,24 - 0,85)	1,16 (0,51 - 2,35)
IL-6 (пг/мл)	0 - 7	19,37 (17,83 - 45,46)	40,82 (14,67 - 68,07)

Примечания. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом Me ($Q_{25}-Q_{75}$). Статистически значимые различия p между группами выявлены с использованием критерия Манн-Уитни.

Другие показатели активности воспалительного процесса и свертывания крови: ферритин, фибриноген и D-димер были выше нормативных значений в 88%, 76% и 58% случаев соответственно. Установлены достоверные различия в содержании СРБ ($p=0,0024$) и фибриногена ($p=0,0189$) в сыворотке крови между двумя группами пациентов COVID-19. IL-6 был определен у 9 человек, и только у одного больного показатель был ниже порогового значения. Установлена положительная корреляционная связь СРБ с абсолютным числом нейтрофилов ($r=0,55$, $p < 0,05$) и содержанием ферритина ($r=0,46$, $p < 0,05$), что подтверждает важное значение этого острофазного белка в поддержании воспаления и развитии нейтрофилиза у пациентов с COVID-19.

Сравнительная характеристика иммунологических показателей больных COVID-19 и лиц контрольной группы представлена в таблице 2. Иммунологическое обследование пациентов выполнено в течение 3-4 недель от момента госпитализации. Установлено, что к этому времени у больных тяжелой формой COVID-19 снизилось абсолютное число нейтрофилов, по сравнению с исходными показателями, и не отличалось от контрольных значений. У пациентов обеих групп достоверно повысилось абсолютное число лимфоцитов по сравнению с показателями, установленными на раннем сроке инфекционного процесса ($p=0,0000$ в каждой группе). Однако у лиц с тяжелым течением COVID-19 абсолютное

число лимфоцитов было достоверно ниже, чем у больных со среднетяжелой формой заболевания ($p=0,0072$).

Таблица 2

Субпопуляционный состав лимфоцитов крови больных COVID19 в зависимости от тяжести течения заболевания

Показатели		Группы наблюдения		
		Условно здоровые (n=25)	Среднетяжелое течение (n=12)	Тяжелое течение (n=18)
Лейкоциты	x10 ⁹ /л	5,70 (5,30-6,30)	9,15 (6,05-1,50) *p=0,0168	5,25 (4,40-6,10) **p=0,0098
	%	36,00 (34,00-37,00)	29,75 (21,75-40,50)	34,75 (16,50-40,50)
Лимфоциты	x10 ⁹ /л	1,98 (1,89-2,28)	2,44 (1,99-3,41) *p=0,0443	1,86 (0,88-2,08) **p=0,0072
	%	56,00 (53,00-59,00)	57,50 (52,00-66,00)	53,25 (45,50-80,00)
Нейтрофилы	x10 ⁹ /л	3,07 (2,75-3,78)	5,13 (2,99-8,01)	2,77 (2,23-3,92)
	%	76,00 (70,00-77,00)	73,50 (69,50-81,50)	73,50 (67,00-78,00)
Т-лимфоциты CD3+ CD19-	x10 ⁹ /л	1,48 (1,32-1,65)	1,80 (1,46-2,36)	1,23 (0,71-1,50) **p=0,0081 *p=0,0398
	%	45,00 (42,00-49,00)	50,00 (43,50-59,50)	48,00 (38,00-53,00)
Т-хелперы CD3+ CD4+	x10 ⁹ /л	0,88 (0,83-1,01)	1,32 (0,97-1,78) *p=0,0490	0,81 (0,49-0,94) **p=0,0092
	%	26,00 (24,00-29,00)	21,50 (17,50-24,00) *p=0,0235	24,50 (18,00-27,00)
Т-цит CD3+CD8+	x10 ⁹ /л	0,54 (0,45-0,63)	0,48 (0,43-0,77)	0,35 (0,23-0,46) *p=0,0038 **p=0,0188
	%	11,00 (10,00-13,00)	11,50 (8,50-21,00)	13,50 (7,00-19,00)
В-лимфоциты CD3-CD19+	x10 ⁹ /л	0,23 (0,19-0,29)	0,31 (0,17-0,61)	0,19 (0,11-0,39)
	%	12,00 (10,00-14,00)	4,90 (2,40-12,70)	9,00 (4,90-16,00)
NK-клетки CD3-CD56+	x10 ⁹ /л	0,25 (0,20-0,29)	0,14 (0,07-0,32) *p=0,0401	0,14 (0,06-0,21) *p=0,0011
	%	2,30 (1,30-3,00)	3,60 (1,80-5,75) *p=0,0168	5,20 (2,30-8,10) *p=0,0019
NKT-клетки CD3+ CD56+	x10 ⁹ /л	0,05 (0,03-0,06)	0,07 (0,04-0,17) *p=0,0049	0,08 (0,04-0,11) *p=0,0267
	%	7,60 (6,75-9,30)	6,8 (6,15-8,80)	7,3 (6,12-9,10)
Т per CD4+ CD25+ CD127-	x10 ⁹ /л	0,07 (0,06-0,10)	0,09 (0,07-0,13)	0,05 (0,04-0,06)

			*p=0,0339	**p=0,0010 *p=0,0366
Т-хелперы акт CD4+ CD25+ CD127+	%	19,55 (15,15-21,25)	18,8 (15,65-27,05)	21,85 (15,60-27,00)
	x10 ⁹ /л	0,17 (0,15-0,21)	0,25 (0,20-0,33) *p=0,0029	0,18 (0,12-0,23)
ИРИ		1,70 (1,60-1,90)	2,45 (1,65-3,55)	2,05 (1,60-2,50)

Примечания. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом Me (Q₂₅-Q₇₅). Статистически значимые различия p между группами выявлены с использованием критерия Манн-Уитни (*p – с контролем (группой условно здоровых лиц); **p – между группами со среднетяжелым и тяжелым течением).

При анализе субпопуляционного состава лимфоцитов выявили достоверно более низкое число цитотоксических CD8⁺Т-лимфоцитов у пациентов с тяжелым течением COVID-19 по сравнению как с контрольной группой ($p=0,0038$), так и группой среднетяжелого течения ($p=0,0188$). Отметим, что снижение абсолютного числа CD4+Т-хелперов и цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов обнаружено в 33% и 61% случаев соответственно. Таким образом, у больных с тяжелым течением COVID-19 отмечали более заметное влияние инфекционного процесса на снижение абсолютного числа цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов, чем CD4+ Т-хелперов, что согласуется с результатами других авторов [20]. Не наблюдали значительных различий в соотношении CD3+CD4+/CD3+CD8+ в обеих группах пациентов. По сравнению с больными, перенесшими заболевание в среднетяжелой форме, в тяжелых случаях у пациентов установлено достоверно более низкое абсолютное количество лимфоцитов ($p=0,0072$) и CD4+Т-хелперов ($p=0,0092$).

Разнонаправленные изменения были обнаружены при оценке Т-регуляторных клеток (Трег) и активированных Т-хелперов (Тх акт). У больных тяжелой формой COVID-19 выявлены признаки истощения резервных возможностей иммунной системы. Установлено снижение абсолютного числа Трег по сравнению с контрольными показателями ($p=0,0366$) и значениями группы больных со среднетяжелой формой заболевания ($p=0,0010$). Напротив, у пациентов со среднетяжелой формой заболевания наблюдали повышение абсолютного числа Трег и активированных Т-хелперов по сравнению с контрольным значением ($p=0,0339$ и $p=0,0029$, соответственно).

Абсолютное число NK-клеток (естественных киллеров, Natural Killer cell) было достоверно снижено по сравнению с контрольными показателями в обеих группах больных COVID-19 ($p=0,0401$ и $p=0,0011$ соответственно) на фоне повышения относительного и абсолютного числа NKT-клеток (Natural Killer T-cell) в обеих группах пациентов по

отношению к показателями здоровых доноров (табл. 2).

Особенностью иммунного статуса обеих групп пациентов COVID-19 было ослабление способности клеток крови к продукции IFN- α и IFN- γ . Индуцированная продукция IFN- α была ниже нормативных значений в 75% и 78% случаев больных первой и второй групп. Показатели выработки IFN- α не различались между группами пациентов, но были достоверно ниже контрольных цифр (71,5 пг/мл (28,5-91,0) и 38,0 пг/мл (18,0-95,0) vs 207,0 пг/мл (185,0-278,0), $p=0,0001$ и $p=0,00001$ соответственно). Способность к синтезу IFN- γ была ниже нормативных значений у 8 человек (67%) со среднетяжелой формой заболевания и у 17 (94%) – с тяжелой формой COVID-19. Показатели продукции IFN- γ были достоверно ниже по сравнению с контрольными значениями (467 пг/мл (334-1044) и 238 пг/мл (152-545) vs 1512 пг/мл (1244-1590), $p=0,0001$ и $p=0,00001$ соответственно) (Рис. 1, 2).

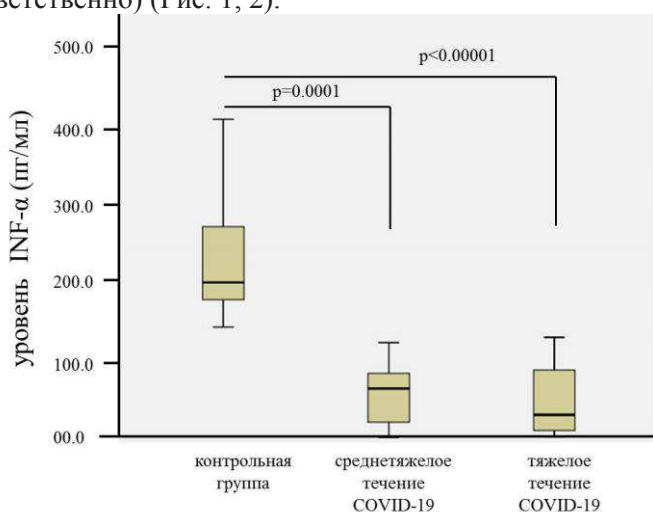


Рис. 1. Показатели продукции IFN- α больных COVID-19.

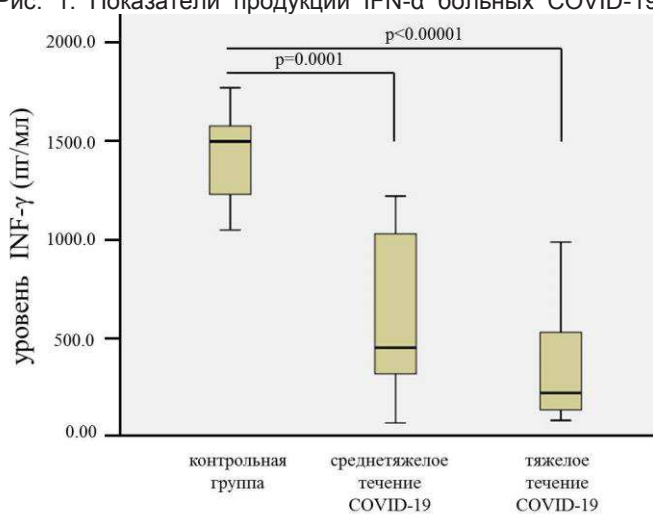


Рис. 1. Показатели продукции IFN- γ больных COVID-19.

Полученные данные свидетельствуют о существенном угнетении интерфероногенеза в обеих группах пациентов с COVID-19.

При оценке гуморального иммунного ответа не обнаружено достоверных различий в содержании В-лимфоцитов в обеих группах больных COVID-19 по сравнению с контрольными показателями (табл. 2). Однако у лиц с тяжелым течением заболевания установлены достоверно более низкие уровни общих IgG и IgM как по сравнению с контрольными значениями, так и с показателями больных со среднетяжелой формой COVID-19. Напротив, уровень IgA у пациентов со среднетяжелым течением заболевания был достоверно выше контрольных значений ($p = 0,0092$) (табл. 3).

Таблица 3

Уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови больных COVID19 в зависимости от тяжести течения заболевания

Показатели	Единицы измерения	Группы наблюдения		
		Условно здоровые (n=25)	Среднетяжелое течение (n=12)	Тяжелое течение (n=18)
IgA	г/л	1,72 (1,49-2,31)	3,13 (1,99-3,84) *p=0,0092	2,18 (1,45-3,20)
IgM	г/л	1,40 (1,10-1,74)	1,49 (0,80-2,49)	0,77 (0,57-1,64) **p=0,0380 *p=0,0206
IgG	г/л	11,00 (10,32-11,55)	10,00 (7,05-12,68)	6,19 (5,08-7,23) **p=0,0235 *p=0,0002

Примечания. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом Ме (Q₂₅-Q₇₅). Статистически значимые различия p между группами выявлены с использованием критерия Манн-Уитни (* p – с контролем (группой условно-здоровых лиц); ** p – между группами со среднетяжелым и тяжелым течением).

Содержание иммуноглобулинов класса М и G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке крови определили у 11 пациентов с тяжелой формой COVID-19. Показатели IgM выше порогового значения (КП $\geq 1,1$) обнаружены у 6 из 11 (55%) в диапазоне от 1,2 до 1,9. Значения IgG выше порогового значения (КП $\geq 1,1$) выявлены у 10 (91%) больных тяжелой формой COVID-19 в диапазоне от 1,8 до 6,1.

Наибольшее число корреляционных связей установлено между числом цитотоксических CD8⁺T-лимфоцитов и другими иммунологическими показателями. Это подтверждает важное значение данной субпопуляции T-лимфоцитов в патогенезе новой коронавирусной инфекции. Абсолютное число CD8⁺T-клеток положительно коррелировало с абсолютным числом CD4⁺ T-хелперов ($r=0,55$, $p<0,05$), NK-клеток ($r=0,49$, $p<0,05$), уровнями IFN- α ($r=0,51$, $p<0,05$) и IFN- γ ($r=0,60$, $p<0,05$), содержанием в сыворотке крови IgG ($r=0,39$, $p<0,05$) и IgM ($r=0,39$, $p<0,05$). Полученные данные свидетельствуют о состоянии иммуносупрессии на поздних сроках инфекционного

процесса, обусловленного SARS-CoV-2, особенно у больных с тяжелым течением заболевания.

ОБСУЖДЕНИЕ

SARS-CoV-2 является членом семейства коронавирусов и относится к β -коронавирусам, также как и MERS-CoV и SARS-CoV. Инфицирование новым коронавирусом SARS-CoV-2 может протекать бессимптомно, приводить к развитию острого инфекционного заболевания респираторного тракта, возникновению тяжелой пневмонии и примерно в 5% случаев к ОРДС и полиорганной недостаточности [9, 10]. В ответ на инфицирование SARS-CoV-2 развиваются защитные реакции, обусловленные активацией врожденного и приобретенного иммунитета, однако особенности иммунопатогенеза COVID-19 в зависимости от тяжести течения инфекционного процесса изучены недостаточно.

Вирусная инфекция может вызывать различные гематологические изменения. По нашим данным, у пациентов с COVID-19 на ранней стадии заболевания установлено снижение абсолютного числа лимфоцитов по сравнению с показателями здоровых людей. Ранее проведенные исследования показали, что снижение количества лимфоцитов и повышение числа нейтрофилов часто встречается у лиц с COVID-19. У больных тяжелой формой в 80% случаев установлено уменьшение абсолютного числа лимфоцитов [15-17, 23]. Считают, что лимфоцитопения у пациентов с COVID-19 может быть обусловлена несколькими механизмами, такими как: хемотаксис лимфоцитов и моноцитов из периферической крови в очаги инфекции [24]; активационно-индуцированная гибель лимфоцитов (AICD) из-за повышенной экспрессии Fas-рецептора на лимфоцитах под влиянием IL-6 [25]; атрофия лимфоидных органов и нарушение рециркуляции лимфоцитов, что может быть связано с чрезмерной активацией и истощением лимфоцитов [26, 27]. В работе L. Tan с соавторами показано, что снижение относительного количества лимфоцитов менее 20% на 10-12-й день и менее 5% – на 17-19-й день от начала COVID-19 связано с плохим прогнозом заболевания [28]. Следовательно, мониторинг колебаний количества лимфоцитов может быть прогностическим индикатором исхода заболевания.

При дальнейшем анализе содержания клеток крови выявили, что наиболее высокое число нейтрофилов было у пациентов с тяжелым течением COVID-19 по сравнению с контрольными показателями на раннем сроке после госпитализации, что согласуется с результатами других исследований [14, 15, 23, 29, 30]. В работе Z. Zhou и соавторы сообщили, что увеличение числа нейтрофилов с воспалительным фенотипом в очаге инфекции связано с неблагоприятными исходами COVID-19. Установлено,

что нейтрофилы мигрируют к месту воспаления в ответ на высокую продукцию хемокинов CXCL1, CXCL2, CXCL8, CXCL10, MCP-1 и CCL7, и дифференцируются в воспалительные нейтрофилы под действием IL-17F, IL-1 β , TNF- α и IL-6 [31]. Нейтрофилез был определен как фактор риска прогрессирования ОРДС вплоть до летального исхода у пациентов с COVID-19 [11, 30]. Нейтрофилы секретируют IFN- γ , IL-6 и MCP-1, привлекающие и активирующие Т-лимфоциты и моноциты, которые могут способствовать усилению иммунных ответов при COVID-19 [13]. В свою очередь, IL-6 инициирует синтез и высвобождение С-реактивного белка. СРБ – это ключевой белок острой фазы воспалительного ответа, который появляется в крови в течение 6-10 часов после возникновения повреждения тканей, имеет период полувыведения из плазмы 19 часов. У всех больных COVID-19, включенных в исследование, обнаружено повышение содержания СРБ на раннем сроке после госпитализации, что согласуется с данными других исследователей [11, 15, 16, 23]. Показано, что повышение уровня СРБ коррелирует с тяжестью течения COVID-19 [32].

Устойчивая репликация вируса может влиять на состояние иммунной системы у больных COVID-19. Считают, что анализ отдельных субпопуляций лимфоцитов представляет большой интерес как для прогнозирования осложнений COVID-19, так и для оценки динамики восстановления иммунной реактивности [16, 17, 20]. Т-лимфоциты являются важными клетками приобретенного противовирусного иммунитета. Различные подтипы CD4⁺Т-хелперов определяют активацию иммунных клеток, способствуют выживанию и поддержанию эффекторных функций цитотоксических CD8⁺Т-клеток, помогают в выработке антител В-лимфоцитам, а также в формировании иммунной памяти. Цитотоксические CD8⁺ Т-лимфоциты являются основными эффекторными клетками, непосредственно уничтожающими зараженные вирусом клетки. Установлено, что у инфицированных SARS-CoV-2 пациентов в интерстициальной ткани легких до 80% инфильтрирующих клеток составляли CD8⁺Т-лимфоциты, что подтверждает их роль в уничтожении вирусинфицированных клеток [18].

Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов больных COVID-19 проведено в течение 3-4 недель после госпитализации. Результаты представлены в таблице 2. Установлено, что у пациентов с тяжелым течением COVID-19 абсолютное число цитотоксических CD8⁺Т-лимфоцитов было достоверно ниже по сравнению с контрольными значениями. По данным других авторов, в острой фазе COVID-19 у пациентов с тяжелым течением заболевания выявлено существенное снижение количества CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, так же как и при SARS

и MERS [16, 17, 33]. При этом у пациентов с более легким течением инфекционного процесса количество Т-лимфоцитов не отличалось от нормальных значений или даже несколько превышало их [34]. В нашем исследовании у больных тяжелой формой COVID-19 обнаружено более выраженное снижение абсолютного числа цитотоксических $CD8^+$ Т-лимфоцитов по сравнению с показателями пациентов со среднетяжелым течением заболевания, что могло являться результатом активацией апоптоза или миграцией клеток из периферической крови в легкие. Из научной литературы известно, что IL-6 способен инициировать гибель Т-клеток посредством активации Fas/FasL [25], тогда как TNF- α и IFN- α/β замедляют циркуляцию Т-клеток между периферической кровью и лимфоидными органами [35]. В других работах показано, что у пациентов с тяжелым течением COVID-19, несмотря на снижение абсолютного количества $CD8^+$ Т-клеток в циркуляции, на их поверхности повышалась экспрессия активационных маркеров, в частности, отражающих активность цитотоксических гранул (HLA-DR, CD25, CD69, CD38, Ki-67) [18-20]. Как правило, у пациентов с COVID-19 степень активации $CD8^+$ Т-клеток выше, чем $CD4^+$ Т-клеток, и повышенное число $CD8^+CD38^+HLA-DR^+$ Т-лимфоцитов сохранялось в течение длительного срока наблюдения [27]. Такие же изменения наблюдали при других инфекционных заболеваниях, таких как малярия, Q-лихорадка и сепсис [8]. Эти данные свидетельствуют, что COVID-19, как и некоторые хронические инфекции, способствует чрезмерной активации и, возможно, последующему истощению цитотоксических $CD8^+$ Т-лимфоцитов.

НК-клетки являются важной частью врожденного иммунитета. Отличительной характеристикой НК-лимфоцитов является их способность к активации без предварительной стимуляции антигеном. НК-клетки совместно с цитотоксическими Т-лимфоцитами играют ключевую роль в уничтожении вирусов при респираторных инфекциях за счет прямой цитотоксичности и секреции цитокинов [36]. В нашем исследовании установлено снижение числа НК-клеток в обеих группах пациентов по сравнению с контрольными показателями. Полученные данные совпадают с результатами других авторов, которые выявили как снижение числа НК-клеток, так и признаки снижения их цитотоксической активности на фоне повышенной продукции цитокинов у пациентов с COVID-19 [16, 17]. Предположение, что IL-6 нарушает продукцию НК-клетками перфорина и гранзима В (GzmB), подтверждено тем, что тоцилизумаб (антагонист рецепторов интерлейкина-6) и анти-TNF- α моноклональные антитела способны восстанавливать функции клеток НК-клеток у пациентов с COVID-19 [37]. Напротив, число НКТ-

клеток, которые являются важным элементом врожденного иммунитета человека и имеют признаки как Т-лимфоцитов, так и НК-клеток, увеличено в обеих группах больных COVID-19 по сравнению с контрольными показателями. Известно, что НКТ-клетки способны продуцировать широкий спектр цитокинов и играют регуляторную роль при различных иммунопатологических процессах [38]. Возможно, повышение числа НКТ-клеток в циркуляции отражает степень активности воспалительного процесса в слизистых оболочках дыхательных путей.

Регуляторные Т-клетки (Трег) играют важную роль в поддержании иммунной толерантности, особенно в тканях слизистых оболочек различных органов. Уменьшение количества Трег-клеток может способствовать развитию легочных осложнений у пациентов с COVID-19 [14, 33]. Нами установлено, что абсолютное число $CD4^+CD127^-CD25^+$ Трег достоверно ниже у больных тяжелой формой COVID-19 по сравнению с показателями условно здоровых людей. Это может являться признаком ослабления контроля над воспалительным процессом и возможностью перехода инфекционного процесса в хроническую стадию.

IFN I типа (IFN- α/β) и IFN III типа (IFN- λ) находятся на переднем крае защиты от вирусных инфекций и играют важную роль в индукции врожденных и адаптивных иммунных ответов [6-8]. Противовирусная функция IFN I и III типа опосредована несколькими механизмами, включая синтез противовирусных белков, подавляющих прохождение вирусами жизненного цикла на всех стадиях, включая проникновение в клетку, трансляцию вирусных белков, репликацию вируса, его сборку и выход в окружающую среду, а также повышение активности НК-клеток, усиление экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (МНС-I) на разных типах клеток и подавление активности Трег [7, 8, 40]. Функции IFN- λ в основном связаны с защитой эпителиальных клеток слизистых оболочек дыхательных путей. INF- γ является важным цитокином клеточного иммунного ответа, активирующего микробицидную активность фагоцитирующих клеток, усиливающего адаптивный специфический иммунный ответ и противовирусные механизмы защиты различных клеток. К основными продуцентами INF- γ относятся $CD4^+$ Т-хелперы, цитотоксические $CD8^+$ Т-лимфоциты и НК-клетки [8]. У пациентов с критически тяжелым течением COVID-19 выявлено снижение числа IFN- γ^+CD4^+ Т-хелперов и GzmB⁺перфорин⁺CD8⁺ Т-клеток на фоне повышенного количества поликлональных GM-CSF⁺CD4⁺Т-клеток, которые могут продуцировать высокие уровни IL-6 и GM-CSF [20, 26, 40]. В нашем исследовании у больных обеих групп обнаружено снижение способности клеток крови к продукции IFN- α и IFN-

γ (Рис.). В ходе эволюции большинство вирусов, в том числе и коронавирусы, приобрели способность блокировать синтез и подавлять противовирусную активность интерферонов [7, 8]. Возможно, супрессия продукции IFN- α и IFN- γ сохраняется длительное время после инфицирования SARS-CoV-2. Полученные данные свидетельствуют о том, что подавление интерфероногенеза может быть следствием негативного влияния нового коронавируса на состояние иммунной защиты и создает возможность перехода инфекционного процесса в хроническую стадию. Следовательно, необходима оценка кинетики продукции IFN- α и IFN- γ на разных стадиях заболевания для определения возможности использования интерферонов в терапевтических целях.

При анализе показателей гуморального иммунного ответа установлено, что число В-лимфоцитов пациентов с COVID-19 не отличалось от контрольных значений. Однако уровни общих IgG и IgM у больных с тяжелой формой были достоверно ниже как по сравнению с контрольными значениями, так и с показателями лиц со среднетяжелым течением COVID-19. Известно, что одной из важнейших биологических функций иммуноглобулинов является связывание антигена и образование ЦИК. По-видимому, снижение уровней общих иммуноглобулинов класса G и M обусловлено их способностью образовывать ЦИК с вирусными антигенами, что косвенно отражает напряженность противовирусного иммунного ответа.

Согласно результатам нашего исследования, содержание IgG и IgM к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке крови было выше порогового значения у 6 из 11 больных (55%) и у 10 человек (91%) с тяжелой формой COVID-19 соответственно. По данным литературы, специфические для SARS-CoV-2 N/S-IgM появляются в первую неделю, достигают пика на второй неделе и уменьшаются на третьей неделе после появления симптомов у пациентов с легкой формой заболевания, тогда как N/S-IgG-антитела увеличиваются на второй неделе, достигают пика на третьей неделе, начинают снижаться к 8 неделе и обнаруживаются в течение 60 дней после появления симптомов [41]. В то время как N-IgM и N-IgG указывают на наличие и прогрессирование инфекции до

стадии упаковки вируса, соответственно, S-IgM способствует провоспалительным процессам за счет активации комплемента и антитело-зависимого усиления инфицирования SARS-CoV-2. Напротив, после нейтрализации вируса S-IgG происходит снижение воспаления за счет фагоцитоза иммунных комплексов, опосредованного Fc-рецептором (Fc γ R), на поздней стадии инфекции. Следовательно, идентификация и измерение N/S-специфических антител IgM/IgG может быть эффективным в диагностике, прогнозе и мониторинге COVID-19.

Полученные результаты подчеркивают важную роль цитотоксических CD8⁺ Т-клеток, NK-клеток и способности клеток крови к продукции IFN- α и IFN- γ в иммунопатогенезе тяжелой формы COVID-19. Выявленные нарушения свидетельствуют о снижении напряженности противовирусного иммунного ответа, что указывает на необходимость длительного наблюдения больных COVID-19 для поиска информативных маркеров восстановления иммунной реактивности.

ВЫВОДЫ

1. Установлено существенное снижение способности клеток крови к продукции INF- α и INF- γ , снижение числа NK-клеток на фоне увеличения количества NKT-клеток в обеих группах больных COVID-19 по сравнению с показателями контрольной группы.

2. Особенностью иммунного профиля пациентов с тяжелым течением COVID-19 было снижение абсолютного числа CD8⁺Т-клеток, Трег, уровней IgG и IgM по сравнению с контрольными значениями; достоверно более низкое количество лимфоцитов, CD4⁺Т-хелперов, CD8⁺Т-клеток, Трег, уровней IgG и IgM по сравнению с показателями пациентов со среднетяжелой формой заболевания.

Установлена прямая корреляционная связь между абсолютным числом цитотоксических CD8⁺Т-лимфоцитов абсолютным числом CD4⁺ Т-хелперов ($r=0,55$, $p<0,05$), NK-клетками ($r=0,49$, $p<0,05$), уровнями IFN- α ($r=0,51$, $p<0,05$) и IFN- γ ($r=0,60$, $p<0,05$), содержанием в сыворотке крови IgG ($r=0,39$, $p<0,05$) и IgM ($r=0,39$, $p<0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Huang C., Wang Y., Li X., et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. The Lancet 2020: www.thelancet.com. Published online January 24, 2020. doi.org/10.1016/S0140-6736 (20): 30183 – 30185
2. A public health emergency of international concern over the global outbreak of novel coronavirus declared by WHO. Available at: [https://www.who.int/dg/speeches/detail/whodirector-general-s-statement-on-ihr-emergency-committee-on-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/dg/speeches/detail/whodirector-general-s-statement-on-ihr-emergency-committee-on-novel-coronavirus-(2019-ncov))
3. Wu F., Zhao S., Yu B., et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. 2020; 579 (7798): 265-269. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
4. Ou X., Liu Y., Lei X., et al. Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immunecross-

- reactivity with SARS-CoV-2. *Nat Commun.* 2020; 11 (1): 1620. doi:10.1038/s41467-020-15562-9
5. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* 2020; 181 (2): 271-280. e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052
6. Смирнов В.С., Тотолян А.А. Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции. *Инфекция и иммунитет.* 2020; 10 (2): 259-268. [Smirnov V.S., Totolyan A.A. Innate immunity in coronavirus infection. *Infection and immunity.* 2020; 10 (2): 259-268 (In Russ)]. doi.org/10.15789/2220-7619-III-1440
7. Климов Н.А., Симбирцев А.С. COVID-19: особенности патогенеза заболевания и мишени для иммунотерапевтического воздействия. *Медицинский академический журнал.* 2020; 20 (3): 75-88. [Klimov N.A., Simbirtsev A.S. COVID-19: features of the disease pathogenesis and targets for immunotherapy. *Medical Academic Journal.* 2020; 20 (3): 75-88 (In Russ)]. doi:10.17816/MAJ48959
8. Fouladseresht H., Doroudchi M., Rokhtabnak N., et al. Predictive monitoring and therapeutic immune biomarkers in the management of clinical complications of COVID-19. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020; S1359-6101 (20): 30216-30221. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.10.002
9. Chen N., Zhou M., Dong X., et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395 (10223): 507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
10. Yazdanpanah F., Hamblin M.R., Rezaei N. The immune system and COVID-19: Friend or foe? *Life Sciences.* 2020; 256 (1): 117900. doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117900
11. Сайганов С.А., Мазуров В.И., Бакулин И.Г. и др. Клиническое течение, эффективность терапии и исходы новой коронавирусной инфекции: предварительный анализ. *Вестник Северо-Западного Государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова.* 2020; 12 (2): 27-38. [Saiganov S.A., Mazurov V.I., Bakulin I.G., et al. Clinical course, efficacy of therapy, and outcomes of new coronavirus infection: a preliminary analysis. *Bulletin of the Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov.* 2020; 12 (2): 27-38 (In Russ)]. doi: 10.17816/mechnikov202012227-38
12. Blanco-Melo D., Nilsson-Payant B.E., Liu W.-C., et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Journal pre-pro of Cell. Press* 2020.04.026. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.026
13. Coperchini F., Chiovato L., Croce L., et al. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020; 53: 25-32. doi:10.1016/j.cytogfr.2020.05.003
14. Qin C., Zhou L., Hu Z., et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.* 2020; pii: ciaa248. doi:10.1093/cid/ciaa248
15. Yufei Y., Mingli L., Xuejiao L., et al. Utility of the neutrophil-to-lymphocyte ratio and C-reactive protein level for coronavirus disease 2019 (COVID-19) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2020; 80 (7): 536-540. doi: 10.1080/00365513.2020.1803587
16. Akbari H., Tabrizi R., Lankarani K.B., et al. The role of cytokine profile and lymphocyte subsets in the severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *Life Sci.* 2020; 258:118167. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118167
17. Wang F., Nie J., Wang H., et al. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 Pneumonia. *J Infect Dis.* 2020; 221 (11): 1762-1769. doi: 10.1093/infdis/jiaa150
18. Song J.W., Zhang C., Fan X., et al. Immunological and inflammatory profiles in mild and severe cases of COVID-19. *Nat Commun.* 2020; 11 (1): 3410. doi: 10.1038/s41467-020-17240-2.
19. Zhao B., Zhong M., Yang Q., et al. Alterations in phenotypes and responses of T cells within 6 months of recovery from COVID-19: A Cohort Study. *Viol Sin.* 2021; 1-10. doi: 10.1007/s12250-021-00348-0.
20. Mathew D., Giles J.R., Baxter A.E., et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science.* 2020; 369 (6508): eabc8511. doi: 10.1126/science.abc8511
21. *Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)».* Версия 10 (08.02.2021). [Temporary guidelines "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)". Version 10 (08.02.2021) (In Russ)].
22. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Проект). *Медицинская иммунология.* 2012; 14 (3): 255-268. [Khaydukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolyan Areg A. Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes with the use of flow cytofluorimeters-analyzers" (Project). *Medical immunology.* 2012; 14 (3): 255-268 (In Russ)]. doi:10.15789/1563-0625-2012-3-255-268
23. Shi S., Nie B., Chen X., et al. Clinical and laboratory characteristics of severe and non-severe patients with COVID-19: A retrospective cohort study in China. *Clin. Lab. Anal.* 2021; 35 (1): e23692. doi: 10.1002/jcla.23692

24. Tian S., Hu W., Niu L., et al. Pulmonary pathology of early phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2020; 15 (5): 700-704. doi: 10.1016/j.jtho.2020.02.010
25. Chen Y., Feng Z., Diao B., et al. The novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARSCoV-2) directly decimates human spleens and lymph nodes. *MedRxiv.* 2020. doi.org/10.1101/2020.03.27.20045427
26. Zheng M., Gao Y., Wang G., et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol. Immunol.* 2020; 17 (5): 533-535. doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2
27. Zheng H.-Y., Zhang M., Yang C.-X., et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol. Immunol.* 2020; 17 (5): 541-543. doi.org/10.1038/s41423-020-0401-3.
28. Tan L., Wang Q., Zhang D., et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct. Target Ther.* 2020; 5 (1): 33-35. doi.org/10.1038/s41392-020-0148-4
29. Yang X., Yu Y., Xu J., et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir. Med.* 2020; 8 (5): 475-481. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5
30. Wang D., Hu B., Hu C., et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020; 323 (11): 1061-1069. doi.org/10.1001/jama.2020.1585.
31. Zhou Z., Ren L., Zhang L., et al. Heightened innate immune responses in the respiratory tract of COVID-19 patients. *Cell Host Microbe.* 2020; 27 (6): 883-890. doi.org/10.1016/j.chom.2020.04.017
32. Potempa L.A., Rajab I.M., Hart P.C., et al. Insights into the use of C - reactive protein as a diagnostic index of disease severity in COVID-19 infections. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020; 103 (2): 561-563. doi: 10.4269/ajtmh.20-0473
33. Chen G., Wu D., Guo W., et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *J. Clin. Invest.* 2020; 130 (5): 2620-2629. doi.org/10.1172/JCI137244
34. Liu B., Han J., Cheng X., et al. Persistent SARS-CoV-2 presence is accompanied with defects in adaptive immune system in non-severe COVID-19 patients. *MedRxiv.* 2020. doi. org/10.1101/2020.03.26.20044768
35. Shiow L.R., Rosen D.B., Brdickova N., et al. CD69 acts downstream of interferon- α/β to inhibit S1P 1 and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nature.* 2006; 440 (7083): 540-544. doi.org/10.1038/nature04606
36. Fox A., Le N.M.H., Horby P., et al. Severe pandemic H1N1 2009 infection is associated with transient NK and T deficiency and aberrant CD 8responses *PLoS One.* 2012; 7 (2): e31535. doi: 10.1371/journal.pone.0031535
37. Cifaldi L., Prencipe G., Caiello I. Inhibition of natural killer cell cytotoxicity by interleukin-6: implications for the pathogenesis of macrophage activation syndrome. 2015; 67 (11): 3037-3046. doi.org/10.1002
38. Табаков Д.В., Заботина Т.Н., Борунова А.А. и др. Гетерогенность популяций НК- и NKT-лимфоцитов у здоровых доноров. *Медицинская иммунология.* 2017; 19 (4): 401-408. [Tabakov D.V., Zabolina T.N., Borunova A.A., et al. Heterogeneity of NK - and NKT-lymphocyte populations in healthy donors. *Medical immunology.* 2017; 19 (4): 401-408 (In Russ)]. doi.org/10.15789/1563-0625-2017-4-401-408
39. Xia S., Tao Y., Cui L., et al. MHC class I molecules exacerbate viral infection by disrupting type I interferon signaling. *J. Immunol. Res.* 2019; 2019: 5370706. doi.org/10.1155/2019/5370706.
40. Zhou Y., Fu B., Zheng X., et al. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. *National Science Review.* 2020; 7: 998-1002. doi.org/10.1093/nsr/nwaa041
41. Adams E.R., Ainsworth M., Anand R., et al. Antibody testing for COVID-19: a report from the National COVID Scientific Advisory Panel. *Wellcome Open Res.* 2020, 5:139. doi.org/10.12688/wellcomeopenres.15927.1

Поступила в редакцию журнала 15.03.2021

Рецензент: О.В. Шадривова

ДИССЕМИНИРОВАННЫЙ МУКОРМИКОЗ, ОБУСЛОВЛЕННЫЙ *LICHTHEIMIA ORNATA*. ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

¹Хостелиди С.Н. (доцент)*, ²Михайлова И.А. (зав. отд.), ¹Богомолова Т.С. (зав. лаб.), ¹Игнатъева С.М. (в.н.с.), ¹Пчелин И.М. (н.с.), ¹Чилина Г.А. (зав. лаб.), ¹Тараскина А.Е. (зам. директора по науке, зав. лаб.), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой), ¹Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

*Мукормикоз – одна из наиболее агрессивно протекающих микотических инфекций. Летальность больных диссеминированным мукормикозом достигает 100%. В статье представлен первый в мире случай диссеминированного мукормикоза, обусловленного *Lichtheimia ornata*. Также проанализированы данные научной литературы по *Lichtheimia*-мукормикозу.*

Ключевые слова: мукормикоз, инвазивная грибковая инфекция, *Lichtheimia* spp., *Lichtheimia ornata*, зигомикоз

DISSEMINATED MUCORMYCOSIS CAUSED BY *LICHTHEIMIA ORNATA*. CLINICAL CASE DESCRIPTION AND LITERATURE REVIEW

¹Khostelidi S.N. (associate professor), ²Miklaylova I.A. (head of the clinical department), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Ignatyeva S.M. (leading scientific researcher), ¹Pchelin I.M. (scientific researcher), ¹Chilina G.A. (head of the laboratory), ¹Taraskina A.E. (deputy director for science, head of the laboratory), ¹Vasilieva N.V. (director of the institute, head of the department), ¹Klimko N.N. (head of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; St. Petersburg, Russia

Mucormycosis is one of the most aggressive mycotic infections. The mortality rate of patients with disseminated mu-

*cormycosis reaches 100%. The article presents the world's first case of disseminated mucormycosis caused by *Lichtheimia ornata*. We analyzed data of the scientific literature on *Lichtheimia*-mucormycosis.*

Key words: mucormycosis, invasive fungal infection, *Lichtheimia* spp., *Lichtheimia ornata*, zygomycosis

ВВЕДЕНИЕ

Мукормикоз (зигомикоз) – тяжелая оппортунистическая инфекция с высокой летальностью. Возбудители мукормикоза – низшие грибы, которые являются представителями самостоятельного отдела – *Mucoromycota* [1, 2]. Виды рода *Lichtheimia* в настоящее время считаются одними из наиболее распространенных возбудителей мукормикоза [3, 4]. Род *Lichtheimia* включает в себя шесть видов: *L. blakesleeana*, *L. brasiliensis*, *L. sphaerocystis*, *L. corymbifera*, *L. ornata*, *L. ramosa*, из которых три последних признаны клинически важными [5-7]. *L. ornata* является криптическим видом, фенотипически не отличимым от *L. corymbifera*. Этот вид можно определить только молекулярно-генетическими методами.

Мы представляем первый в мире случай диссеминированного мукормикоза, вызванного *L. ornata*, и обзор литературы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Представлен клинический случай диссеминированного мукормикоза, обусловленного *L. ornata*, у пациентки на фоне хронического лимфолейкоза. Для постановки диагноза мукормикоза использовали критерии диагностики микозов ЕСММ/MSG ERC, 2020 (Европейской организации по изучению и лечению рака/ группы, исследующей микозы, Национального института аллергологии и инфекционных заболеваний (NIAID) США) [3].

Микологическое исследование биоматериалов.

Прямую микроскопию биоматериалов (аспира́т из придаточных пазух носа, биоптат слизистой оболочки верхнечелюстной придаточной пазухи) проводили методом «влажный мазок», используя в качестве монтирующей жидкости 10% раствор КОН в 10% водном растворе глицерина с добавлением раствора калькофлюора белого. Препараты просматривали во флуоресцентном микроскопе Leica DM LB2 при увеличениях 100X, 200X и 400X.

Посев биоматериалов осуществляли на агаризованную среду Сабуро и инкубировали при температурах 28 и 35 °С. Выделенную культуру гриба идентифицировали по морфологическим особенностям, затем методом ДНК-секвенирования.

Молекулярно-генетический анализ биоптата из тканей придаточных пазух носа больной выполняли с применением разработанной в НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина мультиплексной ПЦР-

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

тест-системы «HRM-Zygo-Asp» в режиме реального времени с анализом кривых плавления ПЦР продуктов высокого разрешения (HRM от англ. High-resolution melting). Тест-система предназначена для выявления возбудителей аспергиллеза и/или мукоромикоза в биосубстратах больных и позволяет идентифицировать *Aspergillus* spp. до рода и некоторые виды мукоромицетов. ДНК из биологического материала выделяли с помощью хлороформ-изоамиловой экстракции, с предварительным измельчением биологического материала на вортексе со стеклянными шариками 5 мм (США). Амплификацию выполняли на приборе Rotor-Gene 6000 (Австралия) с помощью реагентов для проведения ПЦР (полимеразная цепная реакция) в реальном времени («Синтол», Россия), аспергилл- и мукоромицет-специфических праймеров (1,2) и использовали ДНК биоптат в качестве матрицы для проведения реакции. В качестве отрицательного контроля применяли реакционную ПЦР-смесь без добавления матрицы.

Также авторы провели анализ данных научной литературы за последние 10 лет в базах PubMed (январь 2021 г.) и Web of Science (январь 2020 г.). Поиск информации осуществляли по следующим ключевым словам: *mucormycosis*, *invasive fungal infection*, *Lichtheimia* spp., *Lichtheimia ornata*, *zygomycosis*.

Описание клинического случая.

Пациентка К., 74 года, была госпитализирована в отделение онкогематологии клиники факультетской терапии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова в мае 2012 г. с жалобами на выраженную слабость, повышенную потливость по ночам, а также повышение температуры тела до 38,5 °С в течение трех дней.

Пациентка считала себя больной с марта 2002 г., когда впервые был установлен диагноз «хронический лимфолейкоз I ст по Rai». Специфическую терапию не получала (лейкоциты – $13,5 \times 10^9/\text{л}$). В сентябре 2003 г. при контрольном обследовании впервые отмечено повышение уровня лейкоцитов до $67,2 \times 10^9/\text{л}$, снижение тромбоцитов до $100 \times 10^9/\text{л}$ с самостоятельным восстановлением показателей в течение месяца без специфической терапии. С августа 2004 г. наблюдали повторное повышение лейкоцитов до $74 \times 10^9/\text{л}$, в связи с чем начата сдерживающая терапия хлорамбуцилом. В июле 2005 г. хлорбутин был отменен в связи с развитием тромбоцитопении. С августа 2005 г. возобновили применение хлорамбуцила. С октября 2006 г. отмечали учащение инфекционных заболеваний (фолликулярная ангина, ОРВИ). Тогда же отменили хлорамбуцил в связи со стабилизацией состояния. Пациентка не получала специфическую терапию в течение 6 месяцев. Затем лечение было продолжено (лейкоциты – $31,6 \times 10^9/\text{л}$). В декабре 2008 г. перенесла опоясывающий герпес, ганглионеврит и стрептодермию, по поводу чего

проходила лечение на инфекционном отделении. На период противовирусной терапии хлорамбуцил был отменен, в июне 2009 г. цитостатическую терапию продолжили. В ноябре 2011 г. диагностировали болезнь Боуэна (внутриэпидермальный плоскоклеточный рак нижней трети правой голени T0N0M0), провели хирургическое лечение. С августа 2011 г. беспокоила боль в нижней челюсти справа. Неоднократно обращалась к стоматологу, диагностировали одонтогенный периостит, получала антибактериальную терапию без клинического эффекта. В январе 2012 г. находилась на отделении челюстно-лицевой хирургии городской больницы №2. По результатам биопсии правого подчелюстного лимфотического узла заподозрили диффузную В-клеточную лимфому, в связи с чем больную госпитализировали в отделение гематологии СПбГМУ им. И.П. Павлова.

При осмотре на отделении: общее состояние средней тяжести; температура тела – 37,5 °С; кожные покровы бледные, нормальной влажности, на коже всего тела (преимущественно в области лопаток) – элементы гипопигментации (после перенесенного опоясывающего герпеса); периферические лимфоузлы плотные, максимальный диаметр – 2 см. Форма грудной клетки обычная, дыхание самостоятельное, жесткое проводится во все отделы, хрипов нет, частота дыхательных движений – 18 в 1 минуту. Тоны сердца приглушены, ритм правильный, шумы патологические не выслушиваются, артериальное давление – 90 / 60 мм рт. ст., пульс – 72 в 1 минуту. Язык влажный, не обложен; живот мягкий, безболезненный; край печени на уровне реберной дуги, селезенка +1 см. Стул и диурез – в норме. Специфических неврологических симптомов нет.

Клинический анализ крови: эритроциты – $3,2 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин – 107 г/л, лейкоциты – $43,6 \times 10^9/\text{л}$ (нейтрофилы – 6%, лимфоциты – 66%, пролимфоциты – 8%), СОЭ – 12 мм/ч. Биохимический анализ крови: глюкоза – 5,2 ммоль/л, билирубин – 21,5 ммоль/л, аланинаминотрансфераза (АЛТ) – 18 мкмоль/л, общий белок – 59 г/л, креатинин – 87 ммоль/л, K^+ – 4,3 ммоль/л, Na^+ – 132,8 ммоль/л. Д-димер – 371 мкг/л, активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) – 37,6 сек.

При пересмотре гистологических препаратов: обычная гистологическая структура лимфоидной ткани в фрагментах полностью утрачена; исследуемая лимфоидная ткань представляет собой диффузно, близко расположенные друг к другу, достаточно мономорфные лимфоидные клетки; большинство лимфоидных клеток в 1,5-2 раза крупнее малого лимфоцита, с округлыми, угловатыми, расщепленными, зубчатыми ядрами с грубодисперстным хроматином; цитоплазма эозинофильная, в срезах обнаружены единичные митотические фигуры и единичные фигуры апоптоза; между клетками диф-

фузно расположены отдельные малые лимфоциты, кровеносные сосуды и зрелые коллагеновые волокна.

При иммуногистохимическом исследовании в части клеток выявлена экспрессия CD20, в отдельных, неравномерно диффузно распределенных малых лимфоцитах – экспрессия CD3, в значительном числе клеток – экспрессия CD5 и CD23, в ядрах части клеток – экспрессия MUM1.

Электрокардиография (ЭКГ): синусовый ритм, ЧСС – 72 в 1 минуту, признаки перегрузки правого предсердия.

Эхокардиография (ЭХОКГ): митральная регургитация 1 ст., трикуспидальная регургитация 3 ст., легочная регургитация; давление в легочной артерии повышено; нарушение расслабления миокарда левого желудочка.

На рентгенографии органов грудной полости – без очаговых и инфильтративных изменений.

На основании жалоб, анамнеза, осмотра и данных обследования у пациентки диагностирована прогрессия хронического лимфолейкоза, в связи с чем в апреле 2012 г. проведен первый курс полихимиотерапии FCR (флударабин, цислофосфан, ритуксимаб). На фоне проведенного лечения у больной развился агранулоцитоз (лейкоциты – $0,8 \times 10^9/\text{л}$, гранулоциты – менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$), анемия. Дополнительно получала аллопуринол, омепразол, ацикловир, антибактериальную и инфузионную терапию, 2 гемотрансфузии. В течение недели показатели крови восстановились: эритроциты – $2,9 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин – 5 г/л, лейкоциты – $4,4 \times 10^9/\text{л}$ (нейтрофилы – 68%, лимфоциты – 15%, моноциты – 10%, эозинофилы – 7%), СОЭ-10 мм/ч.

02.05.2012 г. больную госпитализировали для очередного курса полихимиотерапии (ПХТ). Накануне в течение нескольких дней отмечала повышение температуры тела до $38,5^\circ\text{C}$. Клинический анализ крови: лейкоциты – $0,8 \times 10^9/\text{л}$ (нейтрофилы – $0,4 \times 10^9/\text{л}$), гемоглобин – 92 г/л, тромбоциты – $77 \times 10^9/\text{л}$. В связи с чем была начата антибактериальная и дезинтоксикационная терапия, а также антимикотическая профилактика флуконазолом (стартовая доза – 800 мг/сутки, затем – 600 мг/сутки). На фоне проводимого лечения у пациентки появились боли в области верхнечелюстной пазухи справа, а затем зона покраснения и отек в периносоевой области. На следующие сутки кожа в области воспаления стала синюшной, появились очаги некроза, область отека распространилась на периорбитальную зону (Рис. 1). Агранулоцитоз сохранялся. По данным КТ легких, очаговых и инфильтративных изменений не выявлено.



Рис. 1. Больная К., 74 г. Риноцеребральный мукормикоз (возбудитель – *Lichtheimia ornata*).

Состояние пациентки ухудшалось, прогрессировали явления интоксикации, нарушение сознания. 10.05.2012 г. больную проконсультировали ЛОР-врач и хирург, диагностировали пансинусит смешанной этиологии с поражением кожи и мягких тканей, а также вовлечением тканей орбиты. Провели санацию пазух с забором материала для посева и микроскопии содержимого пазух, а также биопсию слизистой оболочки. В этот же период флуконазол заменили на позаконазол в дозе 800 мг/сутки.

14.05.2012 г. выполнили магнитно-резонансную томографию (МРТ) головного мозга: картина умеренно выраженной смешанной заместительной гидроцефалии; очаги в веществе головного мозга; изменение интенсивности сигнала и признаки отека мягких тканей лица; воспалительные изменения околоносовых пазух (Рис. 2).

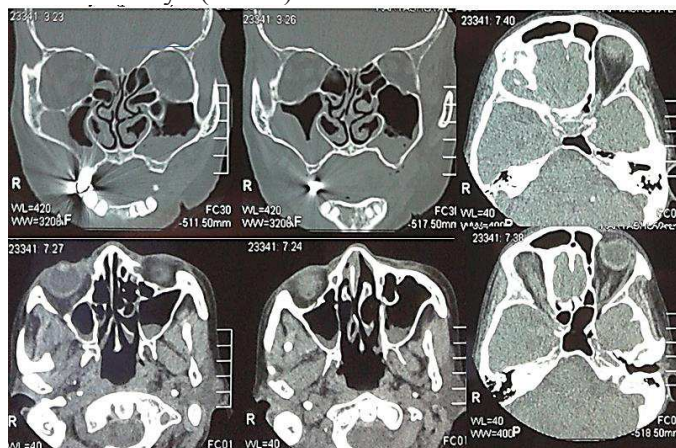


Рис. 2. Больная К., 74 г. Диссеминированный мукормикоз. МРТ головного мозга от 14.05.2012 г.

При микроскопии аспирата из придаточных пазух носа и биоптата обнаружили широкие нити несептированного мицелия, ветвящегося под прямым углом (Рис. 3).

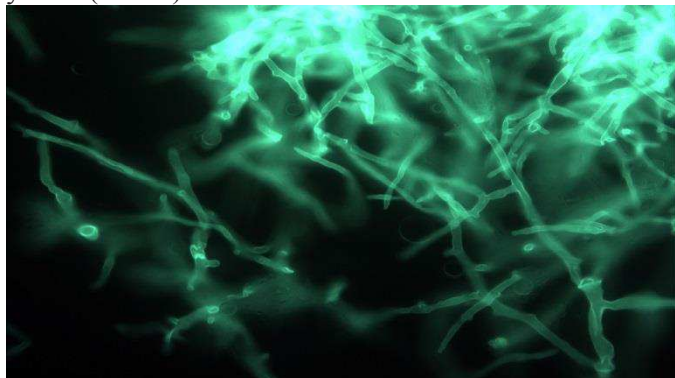


Рис. 3. Широкие нити несептированного мицелия, ветвящегося под прямым углом, в биоптате слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи. Флуоресцентная микроскопия с калькофлюором белым. Увеличение 400х.

При прямой микроскопии мазка-отпечатка биоптата слизистой оболочки верхнечелюстной придаточной пазухи также выявили широкий несептированный мицелий. При посеве была получена культура мукормицета, идентифицированная по морфологическим особенностям как *Lichtheimia corymbifera* (Рис. 4).

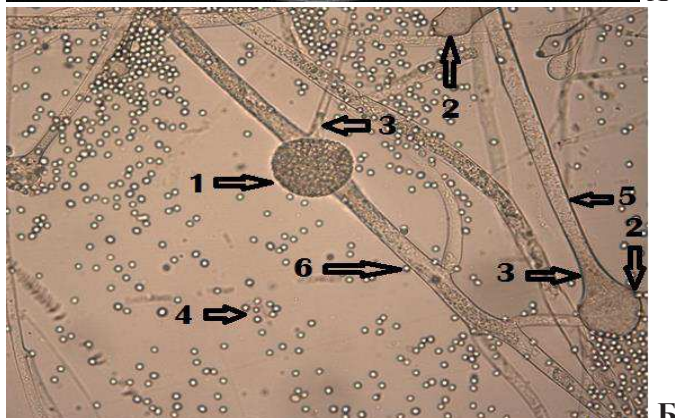


Рис. 4. А) Культура *Lichtheimia corymbifera* на агаре Сабуро; Б) Микроскопия культуры *L. corymbifera* (Ув. 400х): 1 – спорангий, 2 – колумелла, 3 – апофиза, 4 – спорангиоспоры; 5 – спорангиеносец; 6) вегетативный мицелий.

Пациентка была проконсультирована микологом: на основании наличия у больной клинических признаков, факторов риска развития инвазивного микоза, а также результатов проведенного обследования диагностировали мукормикоз (возбудитель – *L. corymbifera*). Рекомендовано: проведение антимикотической терапии (препараты выбора – липосомальный амфотерицин В по 3-5 мг/кг/сутки или липидный комплекс амфотерицина В по 5 мг/кг/сутки), коррекция агранулоцитоза, хирургическое удаление некротизированных тканей, выполнение контрольных исследований (посевы отделяемого придаточных пазух носа, гистологическое исследование послеоперационного материала, компьютерная томография (КТ) легких, КТ придаточных пазух носа, МРТ головного мозга).

Антимикотическая терапия была начата амфотерицином В деоксихолатом в дозе 50 мг/сутки в течение 2 дней, а затем продолжена липосомальным амфотерицином В в дозе 3 мг/кг/сутки. В этот же период отмечали прогрессию основного заболевания (клинический анализ крови от 15.05.2012 г.: лейкоциты – не обнаружены, тромбоциты – 3×10^9 /л, эритроциты – $2,1 \times 10^{12}$ /л, гемоглобин – 70 г/л). Выраженная тромбоцитопения послужила поводом временно отказаться от хирургического лечения.

Прогрессия основного заболевания, нарастающая интоксикация и полиорганная недостаточность стали причиной гибели больной через 6 дней от начала антимикотической терапии.

При аутопсии был подтвержден диссеминированный мукормикоз с поражением тканей кожи носогубного треугольника, слизистых оболочек мягкого и твердого нёба, носовых ходов, пазухи решетчатой кости, склер обоих глазных яблок и базальных отделов лобных долей головного мозга с размягчением ткани и кровоизлияниями в мягкую мозговую оболочку (при микроскопии от 17.05.12 г. был выявлен мицелий мукормицета); двусторонняя крупноочаговая микотическая пневмония; эрозии желудка, резко выраженная паренхиматозная дистрофия внутренних органов; альвеолярный отёк ткани лёгких; отёк и полнокровие мозговых оболочек; отёк ткани головного мозга; причина смерти – интоксикация.

Описанный случай является первым доказанным диссеминированным мукормикозом, вызванным *Lichtheimia ornata*, в мире. Первоначально возбудитель был идентифицирован по морфологическим особенностям как *L. corymbifera* и депонирован в Российскую коллекцию патогенных грибов (РКПГ) НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина.

Однако при проведении молекулярно-генетического исследования культур мукоромицетов, хранящихся в РКПГ, культура была идентифи-

цирована как *L. ornata* с помощью секвенирования ITS-области рибосомной РНК. Выявили, что *L. ornata* были сгруппированы с типовым штаммом CBS 291.66 и различались однозначно от *L. corymbifera* [6, 8]. Анализ нуклеотидных последовательностей региона ITS (номер доступа в базе данных Генбанк JX661052, и локуса LSU, JX961703) были получены в ходе проведенного ранее исследования. При поиске инструментом Blast обнаружили, что наибольшее сходство с последовательностями штамма РКПГ 1507 имели последовательности, отнесенные к видам *L. ornata*, *L. corymbifera* и *L. ramosa*. Точно установить видовую принадлежность таким подходом не удалось. Поэтому мы подготовили выравнивание нуклеотидных последовательностей типовых и референсных штаммов перечисленных видов из таксономической работы Грит Вальтер с соавторами [6]. Из итогового конкатенированного выравнивания была удалена инсерция длиной около 140 п.н., принадлежавшая региону ITS штамма *L. ramosa* CBS 582.65. На древе, рассчитанном методом максимального правдоподобия в программе PhyML v3.1 [13] пакета SeaView 5.0.4 [14], последовательности штамма РКПГ 1507 кластеризовались с последовательностями вида *L. ornata* (Рис.5).

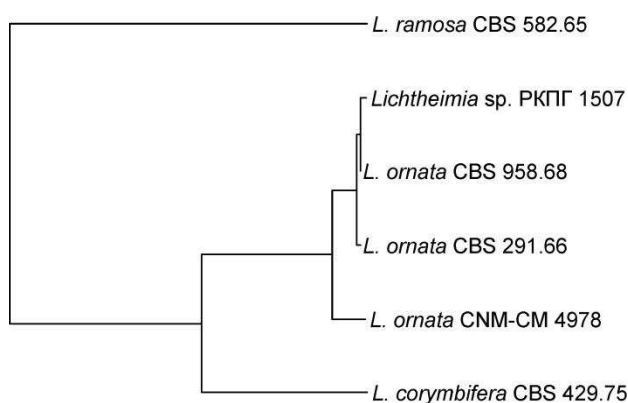


Рис. 5. Установление видовой принадлежности штамма РКПГ 1507.

ОБСУЖДЕНИЕ

Вызванный *Lichtheimia* spp. мукормикоз – тяжелое заболевание с высокой летальностью. Распространенность *Lichtheimia* spp. среди возбудителей мукормикоза значительно различается между географическими регионами. В недавних европейских исследованиях *Lichtheimia* spp. (*L. corymbifera* – 84%) были причиной 17,5%-42% случаев мукормикоза [8-12]. Однако, поскольку *L. ramosa* и *L. corymbifera* долгое время использовали как синонимы, а *L. ornata* только недавно определили как отдельный вид, правильная оценка встречаемости этого вида затруднена [9].

При анализе данных литературы установлено, что гематологические злокачественные новообразо-

вания (до 80%), особенно острый миелоидный лейкоз, являются наиболее частыми фоновыми заболеваниями у пациентов с обусловленным *Lichtheimia* spp. мукормикозом [8-12]. При этом основными факторами риска развития заболевания являются длительный агранулоцитоз, иммуносупрессивная и высокодозная цитостатическая терапия, а также длительное применение глюкокортикостероидов. У наблюдаемой нами больной мукормикоз развился на фоне хронического лимфолейкоза в период агранулоцитоза.

Недавно проведенный мета-анализ случаев мукормикоза продемонстрировал, что *Lichtheimia* spp. наиболее часто являются причиной поражения кожи и глубоких тканей, в тоже время нужно учитывать, что большинство рассмотренных случаев были описаны в Африке [8, 12]. В Европе основным клиническим вариантом *Lichtheimia*-мукормикоза является поражение легких [4, 8, 11].

Согласно международным рекомендациям, основные антимикотики для лечения мукормикоза – липосомальный авфотерицин В, липидный комплекс амфотерицина В, изавуконазол и позаконазол [7].

По литературным данным, при лечении *Lichtheimia*-мукормикоза также чаще применяют липидные фракции амфотерицина В (65-80%) [4, 11, 12]. Junling Pan и соавторы отметили, что комбинированную антимикотическую терапию применяли у 20% больных с *Lichtheimia*-мукормикозом [8]. Хирургические методы использовали у 43%-63% пациентов [8, 11]. У наблюдаемой нами больной проводили антимикотическую терапию амфотерицином В деоксихолатом и липосомальным амфотерицином В в стандартных дозировках, также выполняли хирургическую санацию полости носа и придаточных пазух.

Несмотря на применение новых антимикотических препаратов и хирургическое лечение, выживаемость больных *Lichtheimia*-мукормикозом остается низкой. Так, Jesús Guinea и соавторы сообщают о 50% выживаемости [11]. В то же время Junling Pan et al., в 2020 г. описавшие первый клинический случай риноцеребрального мукормикоза, ассоциированного с *L. ornata*, также сообщили о летальном исходе [8].

Таким образом, представленный нами клинический случай и анализ ранее опубликованных материалов демонстрируют, что *L. ornata* является причиной тяжело протекающих клинических вариантов мукормикоза, часто с поражением 2 и более органов и последующей гематогенной диссеминацией и, как следствие, высокой летальностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klimko N., Kozlova Y., Khostelidi S., et al. The burden of serious fungal diseases in Russia. *Mycoses*. 2015; 58 (S5): 58-62. doi:10.1111/myc.1238
2. Skiada A., Lass-Floerl C., Klimko N., et al. Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. *Med. Mycol.* 2018; 56 (suppl.1): 93-101. doi: 10.1093/mmy/myx101. Review.
3. Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71 (6): 1367-1376. doi.org/10.1093/cid/ciz1008
4. Lanternier F., Dannaoui E., Morizot G., et al. The French Mycosis Study Group A Global Analysis of Mucormycosis in France: The RetroZygo Study (2005-2007) *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54: S35-S43. doi: 10.1093/cid/cir880.
5. De Hoog G.S., Guarro J., Gene' J., Figueras M.J. Atlas of clinical fungi. E-version 4.1.4. Utrecht/Reus 2016: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute/Universitat Rovira i Virgili.
6. Walther G., Wagner L., Kurzai O. Updates on the taxonomy of mucorales with an emphasis on clinically important taxa. *J. Fungi*. 2019; 5: 106. doi: 10.3390/jof5040106.
7. Cornely O.A., Alastruey-Izquierdo A., Arenz D., et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: An initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19: e405-e421. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30312-3.
8. Junling Pan, Clement Tsui, Mengxing Li, et al. First case of rhinocerebral mucormycosis caused by *Lichtheimia ornata*, with a review of *Lichtheimia* infections. *Mycopathologia*. 2020; 185: 555-567. doi.org/10.1007/s11046-020-00451-y
9. Volker U. Schwartze, Ilse D. Jacobsen mucormycoses caused by *Lichtheimia* species. *Mycoses*. 2014; 57 (Suppl. 3): 73-78. doi:10.1111/myc.12239
10. Zoi Dorothea Pana, Danila Seidel, Anna Skiada, et al. Invasive mucormycosis in children: an epidemiologic study in European and non-European countries based on two registries *BMC. Infect Dis.* 2016; 16: 667. doi: 10.1186/s12879-016-2005-1
11. Jesús Guinea, Pilar Escribano, Antonio Vena, et al. Increasing incidence of mucormycosis in a large Spanish hospital from 2007 to 2015: Epidemiology and microbiological characterization of the isolates. *PLoS One*. 2017; 12 (6): e0179136. doi: 10.1371/journal.pone.0179136
12. Jeong W., Keighley C., Wolfe R., et al. The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 25 (1): 26-34. doi: 10.1016/j.cmi.2018.07.011.
13. Guindon S., Dufayard J.F., Lefort V., et al. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*. 2010; 59 (3): 307-321. doi.org/10.1093/sysbio/syq010
14. Gouy M., Guindon S. & Gascuel O. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution* 2010. 27 (2): 221-224. doi.org/10.1093/molbev/msp259

Поступила в редакцию журнала 22.03.2021

Рецензент: М.А. Шевяков

КАНДИДОЗ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА – ВАЖНЫЙ ПРЕДИКТОР НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Боровицкий В.С. (врач-фтизиатр, главный специалист научно-инновационного отдела)*

Федеральное казённое учреждение здравоохранения Медико-санитарная часть №43 Федеральной службы исполнения наказаний, Филиал «Туберкулезная больница», г. Кирово-Чепецк; Кировский государственный медицинский университет, Киров, Россия

Цель работы – выявление влияния кандидоза желудочно-кишечного тракта на неблагоприятный исход у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией.

Материалы и методы. Обследовали 363 пациентов с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией. Первую группу составили 59 человек (16,3%) с неблагоприятным исходом заболевания, вторую – 304 (83,7%) с благоприятным исходом. Использовали клинические, лабораторные, микробиологические, статистические методы.

Результаты. Кандидоз ЖКТ – важный предиктор неблагоприятного исхода у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией, в 14,7 раз повышающий неблагоприятный исход у пациента с туберкулезом с ВИЧ-инфекцией, чем у лиц без кандидоза ЖКТ.

Ключевые слова: туберкулез, ВИЧ-инфекция, кандидоз, неблагоприятный исход, факторы риска

GASTROINTESTINAL CANDIDIASIS IS AN IMPORTANT PREDICTOR OF POOR OUTCOME IN HIV-INFECTED TUBERCULOSIS PATIENTS

Borovitsky V.S. (phthisiologist, chief specialist of the research and innovation department)

Federal Public Health Institution Medical and Sanitary Unit №43 of the Federal Penitentiary Service, Branch "Tuberculosis Hospital", Kirovo-Chepetsk; Kirov State Medical University, Kirov, Russia

Purpose: to identify the effect of gastrointestinal candidiasis on an unfavorable outcome in a tuberculosis patient with HIV infection.

Materials and methods. We examined 363 patients with tuberculosis and HIV infection. The first group consisted of 59 people (16.3%) with an unfavorable outcome of the disease, the second – 304 (83.7%) with a favorable outcome. We used clinical, laboratory, microbiological, and statistical methods.

Results. Gastrointestinal candidiasis is an important

predictor of an unfavorable outcome in patients with tuberculosis with HIV infection, which increases the unfavorable outcome in a patient with tuberculosis with HIV infection by 14.7 times than in a patient without gastrointestinal candidiasis

Key words: tuberculosis, HIV infection, candidiasis, failure, factors of risk

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез на поздних стадиях ВИЧ-инфекции может приводить к неблагоприятному исходу в связи с атипичным течением, «масками» других инфекционных заболеваний, появлением осложнений (дыхательная недостаточность, инфекционно-токсический шок, гипертермия и др.) и/или присоединении вторичных инфекций.

Факторы, известные в настоящее время и связанные с высоким риском неблагоприятного исхода у больного туберкулезом с ВИЧ-инфекцией при госпитализации в стационар:

- мужской пол, кандидоз ротоглотки, саркома Капоши, низкий уровень гемоглобина, лейкоцитов и CD₄-лимфоцитов [1];

- у детей: возраст < 2 лет, сиротство, пониженный вес, гипоксия, кандидозный стоматит ротовой полости, постоянный жидкий стул, выше log₁₀ HIV-1 вирусная нагрузка [2];

- возраст более 54 лет, наркомания, низкое число CD₄-лимфоцитов (менее 50 клеток в мкл) [3];

- наличие сопутствующей патологии, пожилой возраст, поздняя госпитализация [4];

- только низкий вес [5];

- использование противовирусной терапии с высоким риском побочных эффектов и рифампицин-несовместимых противовирусных препаратов [6];

- увеличение в сыворотке крови следующих биомаркеров: С-реактивного белка, γ-интерферона, фактора MCP-3, интерлейкина-15 и интерлейкина-17 [7];

- у заключённого в местах лишения свободы: возраст, наличие и длительность образования, место рождения, повторное преступление, рецидив туберкулеза [8].

Таким образом, вопрос о влиянии кандидоза желудочно-кишечного тракта на неблагоприятный исход у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией в настоящее время не изучен.

Цель нашего исследования – выявление клинических и лабораторных факторов, связанных с неблагоприятным исходом у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией с наибольшей чувствительностью и специфичностью. При этом нами выдвинута гипотеза, что кандидоз желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – важный предиктор неблагоприятного исхода у пациентов с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией.

* Контактное лицо: Боровицкий Владислав Семенович, e-mail: qwertyuiop54@yandex.ru

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в филиале «Туберкулезная больница» ФКУЗ Медико-санитарная часть №43 ФСИН. Объект изучения – 363 больных с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией, поступивших на лечение в стационар с 1999 по 2017 гг. Пациенты были разделены на 2 группы: первая группа – 59 человек (16,3%) с неблагоприятным исходом заболевания (умершие и освобождённые из мест лишения свободы досрочно по состоянию здоровья по решению суда в связи с неблагоприятным прогнозом для жизни); вторая группа – 304 больных (83,7%) с благоприятным исходом заболевания.

Диагноз туберкулеза был подтверждён микробиологическим (посев мокроты/иных жидкостей на твёрдые или жидкие среды), рентгенологическим или методом ДНК-диагностики, кандидоза – на основании лабораторных микробиологических методов исследования: микроскопия и посев мазков с видимых патологических изменений слизистой оболочки рта и пищевода (при проведении фиброгастроуденоскопии), отделяемого из прямой кишки на среду Сабуро с инкубацией при температуре 37 °С (описание методики в приказе МЗ СССР №535 от 22.04.1985 г). Идентификацию видов грибов рода *Candida* не проводили. До поступления в стационар противогрибковое лечение больные не получали.

Методы статистического анализа.

Для статистического анализа набранного клинического материала была подготовлена база данных в табличном процессоре «Excel Microsoft® 2002 (10.2701.2625)». Анализ данных проводили в программах: Medcalc® (MedCalc Statistical Software version 19.2, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2017), STATISTICA 6 (StatSoft, Inc. 2001. STATISTICA, www.statsoft.com). Все количественные параметры проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Д'Агостино–Пирсона. Предположение о нормальности было отклонено практически для всех показателей, поэтому данные представлены в виде: медиана (Me), верхний (75-й процентиль) и нижний (25-й процентиль) квартили (Me; 25-75%). Исследование взаимосвязи между парами дискретных качественных признаков осуществляли с помощью анализа парных таблиц сопряжённости по критерию Пирсона (χ^2) с поправкой Йейтса на непрерывность для числа степеней свободы $df=1$. Критерий Манна-Уитни (дву-

сторонняя вероятность) применяли для определения статистически значимого различия положения медианы двух независимых выборок. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимали равным 0,05. Использовали понятия: шанс – вероятность наличия клинического признака у больного по сравнению с вероятностью, что клинический признак отсутствует, отношение шансов (ОШ) – частое от деления одного значения шансов на другое [9, 10].

Для анализа взаимосвязи между одним качественным признаком, выступающим в роли зависимого, результирующего показателя, и подмножеством качественных признаков применяли модель логистической регрессии. Оценку риска события у пациентов выполняли методом статистического моделирования – простая логистическая регрессия (для выявления признаков имеющих наибольший вес). Возможность использования данного метода обусловлена соблюдением нами определённых условий, а именно: возможность принятия зависимым параметром только двух значений (0 – нет, 1 – да), все остальные (независимые) параметры, задействованные в анализе, могут принимать любые значения. Бинарная логистическая регрессия рассчитывает вероятность наступления события в зависимости от значений независимых переменных. В нашей работе: 1 – клинический признак выявлен у больного с туберкулезом в сочетании с ВИЧ-инфекцией с неблагоприятным исходом, 0 – не выявлен. Оценивали чувствительность и специфичность клинических признаков. Характеристика групп представлена в таблице 1.

Таким образом, исследованные группы статистически значимо различались по всем показателям, кроме: возраста, длительности курения, злоупотреблению алкоголем и наркотиками, по структуре ЛУ МБТ, числу судимостей и длительности заключения, числу лейкоцитов, эозинофилов и моноцитов в формуле крови (табл. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нами вычислено отношение шансов показателей, связанных с неблагоприятным исходом туберкулеза с ВИЧ-инфекцией, по данным бинарной логистической регрессии, выявлен массив признаков (табл. 2).

Таблица 1

Характеристика исследованных групп

		1-я группа Me; 25-75% или % (абс.)	2-я группа Me; 25-75% или % (абс.)	U Манна-Уитни; P	χ^2 ; P
варианты кандидозного поражения ЖКТ	кандидоз кишечника	72,9% (43)	15,5% (47)	-	87,130; < 0,0001
	орофарингеальный кандидоз	74,6% (44)	12,5% (38)	-	108,584; < 0,0001
	кандидоз пищевода	22,0% (13)	8,9% (34)	-	5,146; 0,0233
длительность ВИЧ-инфекции		6 (3-9)	4,5 (2-8)	7381,5; 0,0305	-

возраст (лет)	31 (27-37)	32 (28-37)	8368,0; 0,4154	-
ИМТ	19,88 (18,29-21,78)	22,18 (20,57-23,89)	5048,0; <0,0001	-
курильщик	98,3% (58)	98,7% (300)	-	0,0521; 0,8194
длительность курения	17 (11-21)	20 (16-22)	7400,0; 0,0702	-
злоупотреблял алкоголем	11,9% (7)	14,5% (44)	-	0,278; 0,5981
ранее употреблял наркотики	93,2% (55)	91,4% (278)	-	0,204; 0,6513
число судимостей	3 (2-4)	3 (2-4)	8076,0; 0,2179	-
срок пребывания в местах лишения свободы (лет)	6 (2-8)	6 (2,5-10)	8340,5; 0,3944	-
МБТ (+)	84,7% (50)	62,2% (189)	-	11,165; 0,0008
ЛЧ МБТ	34% (17)	34,9% (66)	-	0,0147; 0,9034
ЛУ МБТ	66% (33)	65,1% (123)	-	0,0147; 0,9034
МР МБТ	2% (1)	6,9% (13)	-	1,699; 0,1924
ПР МБТ	10% (5)	14,8% (28)	-	0,767; 0,3812
МЛУ МБТ (+ШЛУ)	54% (27)	43,4% (82)	-	1,788; 0,1812
уровень CD ₃ -лимфоцитов (·10 ⁹ /л)	0,66 (0,405-1,268)	1,52 (0,995-2,13)	2860,5; <0,0001	-
уровень CD ₄ -лимфоцитов (·10 ⁹ /л)	0,060 (0,030-0,156)	0,350 (0,178-0,518)	2449,0; <0,0001	-
уровень CD ₄ -лимфоцитов (%)	10 (4-19)	20 (12-27)	3339,0; <0,0001	-
уровень CD ₈ -лимфоцитов (·10 ⁹ /л)	0,55 (0,335-0,825)	1,114 (0,704-1,577)	2713,0; <0,0001	-
соотношение CD ₄ /CD ₈ -лимфоцитов	0,17 (0,078-0,453)	0,32 (0,18-0,49)	3827,5; 0,0098	-
ЛТИ	8,1 (4,7-12,3)	3,9 (3,0-5,6)	2057,0; <0,0001	-
уровень РНК ВИЧ (копий в мкл)	324 324 (41 713-1 101 426)	43 865 (2 824-230 505)	1288,5; 0,0006	-
гемоглобин (г/л)	113 (96 - 130)	142 (130 - 150)	3473,5; <0,0001	-
эритроциты (·10 ¹² /л)	3,86 (3,42-4,28)	4,50 (4,22-4,77)	3698,5; <0,0001	-
лейкоциты (·10 ⁹ /л)	5,6 (4-8,5)	5,3 (4,4-6,7)	8059,0; 0,2174	-
палочкоядерные нейтрофилы (%)	11 (7-20)	5 (2-9)	4110,0; <0,0001	-
сегментоядерные нейтрофилы (%)	51 (44-61)	46 (38-55)	7091,0; 0,0109	-
лимфоциты (%)	21 (14-32)	35 (27-42)	4636,5; <0,0001	-
эозинофилы (%)	2 (1-5)	3 (2-5)	4002,5; 0,2170	-
моноциты (%)	6 (4-9)	7 (5-10)	7602,0; 0,1022	-
СОЭ (мм/час)	50 (30-62)	19 (10-34)	3943,5; <0,0001	-

МБТ – микобактерии туберкулеза, ЛЧ – лекарственно чувствительные, ЛУ – лекарственно устойчивые, МР – монорезистентность, ПР – полирезистентность, МЛУ – множественная ЛУ, ШЛУ – широкая ЛУ.

Таблица 2

Отношение шансов предикторов неблагоприятного исхода на момент поступления пациента в стационар

клинические признаки	ОШ	ОШ 95% ДИ	P	Se	Sp
отсутствие жалоб при поступлении	0,04444	от 0,002702 до 0,7311	0,0293	100	15,79
клинические проявления отсутствуют	0,0967	от 0,01307 до 0,7156	0,0222	98,31	15,13
клинические проявления слабо выражены	0,1045	от 0,03195 до 0,3421	0,0002	94,92	33,88
распространение процесса 1-2 сегмента лёгких	0,2127	от 0,1129 до 0,4009	< 0,0001	70,37	66,43
клинические проявления умеренно выражены	0,2568	от 0,1067 до 0,6185	0,0024	89,83	30,59
посев мокроты (МБТ 1+)	0,2793	от 0,1413 до 0,5522	0,0002	72	58,2
умеренная инфильтрация в лёгких	0,318	от 0,1748 до 0,5784	0,0002	50	75,87
микроскопия мокроты (МБТ 1+)	0,3944	от 0,1888 до 0,8241	0,0133	46,34	74,59
каверна односторонняя в лёгких	0,4697	от 0,2210 до 0,9984	0,0495	37,5	78,01
каверна размером до 2 см в лёгких	0,4959	от 0,2103 до 1,1694	0,109	25	85,82
слабая инфильтрация в лёгких	0,5556	от 0,1893 до 1,6306	0,2846	92,59	12,59
боли в поясничной области	0,6379	от 0,07829 до 5,1983	0,6745	98,31	2,63
контакт с больным туберкулезом	0,6563	от 0,3748 до 1,1490	0,1405	54,24	56,25
курильщик	0,7733	от 0,08489 до 7,0446	0,8196	1,69	98,68
злоупотребление алкоголем	0,7955	от 0,3395 до 1,8636	0,5983	88,14	14,47
ЛУ МБТ к О ПТП	0,8443	от 0,3783 до 1,8844	0,6794	82	20,63
ЛЧ МБТ	0,9601	от 0,4976 до 1,8522	0,9032	66	34,92
МЛУ МБТ к О ПТП	1,2357	от 0,4953 до 3,0829	0,65	14	88,36
употребление наркотиков	1,286	от 0,4316 до 3,8314	0,6516	93,22	8,55
кашель сухой	1,2982	от 0,2687 до 6,2730	0,7454	3,39	97,37
зуд или сыпь на руках	1,4012	от 0,4481 до 4,3814	0,5619	6,78	95,07
ЛУ МБТ к О и Р ПТП	1,4158	от 0,7546 до 2,6563	0,2789	46	62,43
МЛУ МБТ к О и Р ПТП	1,4333	от 0,7532 до 2,7275	0,2728	40	68,25

МЛУ МБТ	1,5318	от 0,8190 до 2,8651	0,1819	42	60,85
каверна размером 2-4 см в лёгких	1,5472	от 0,5923 до 4,0421	0,373	17,5	87,94
распространение процесса 1-2 доли лёгких	1,5552	от 0,8383 до 2,8854	0,1614	35,19	74,13
боли в грудной клетке	1,6808	от 0,8942 до 3,1592	0,1068	28,81	80,59
посев мокроты (МБТ 2+)	1,8	от 0,9234 до 3,5087	0,0843	36	76,19
состоит в браке	1,9007	от 0,9223 до 3,9171	0,0817	20,34	88,16
наследственностьотягощена по туберкулезу	1,9372	от 0,5952 до 6,3049	0,2721	6,78	96,38
двусторонняя инфильтрация в лёгких	1,9427	от 1,0811 до 3,4909	0,0264	51,85	64,34
заражение ВИЧ ранее туберкулеза	2,025	от 0,7702 до 5,3242	0,1526	91,53	15,79
микроскопия мокроты (МБТ 3+)	2,1185	от 0,9028 до 4,9716	0,0845	26,83	85,25
двусторонние каверны в лёгких	2,129	от 1,0016 до 4,5255	0,0495	37,5	78,01
микроскопия мокроты (МБТ 2+)	2,2222	от 0,8378 до 5,8946	0,1086	19,51	90,16
озноб	2,2726	от 0,8981 до 5,7511	0,0831	11,86	94,41
потливость	2,3439	от 1,2801 до 4,2918	0,0058	35,59	80,92
наличие каверн	2,4337	от 1,3480 до 4,3940	0,0032	67,8	53,62
посев мокроты (МБТ 3+)	2,6591	от 1,3353 до 5,2954	0,0054	36	82,54
микоз поверхностный	3,0104	от 0,3899 до 23,2405	0,2906	98,31	4,93
кашель с мокротой	3,0612	от 1,4496 до 6,4648	0,0034	84,75	35,53
ШЛУ МБТ	3,0852	от 1,0182 до 9,3486	0,0464	12	95,77
боли в правом подреберье	3,2474	от 1,7858 до 5,9055	0,0001	40,68	82,57
МБТ (+) при поступлении	3,3804	от 1,6022 до 7,1319	0,0014	84,75	37,83
каверна более 4 см в лёгких	3,7297	от 0,7228 до 19,2457	0,1159	7,5	97,87
внелёгочные локализации туберкулеза	5,9829	от 3,0267 до 11,8266	< 0,0001	33,9	92,11
острое начало заболевания	6,2812	от 3,3818 до 11,6668	< 0,0001	45,76	88,16
распространение процесса 3-5 долей лёгких	6,5143	от 3,2095 до 13,2222	< 0,0001	35,19	92,31
головные боли	7,4295	от 3,9961 до 13,8128	< 0,0001	49,15	88,49
ослабленное везикулярное дыхание	7,5116	2,9570 до 19,0815	< 0,0001	18,64	97,04
слабость	8,7429	от 3,4026 до 22,4646	< 0,0001	91,53	44,74
лимфаденопатия	11,8231	от 4,9321 до 28,3419	< 0,0001	89,83	57,24
спленомегалия	13,005	от 5,9449 до 28,4495	< 0,0001	86,44	67,11
кандидоз ЖКТ	14,6955	от 7,6504 до 28,2282	< 0,0001	72,88	84,54
одышка	15,6025	от 7,8001 до 31,2095	< 0,0001	79,66	79,93
гепатомегалия	15,8927	от 6,1808 до 40,8649	< 0,0001	91,53	59,54
снижение аппетита	16,9568	от 8,8139 до 32,6228	< 0,0001	69,49	88,16
похудание	18,8125	от 9,6548 до 36,6564	< 0,0001	72,88	87,5
выраженная степень клинических проявлений	19,1258	от 9,1699 до 39,8912	< 0,0001	83,05	79,61
жидкий стул	25,3714	от 10,5922 до 60,7718	< 0,0001	40,68	97,37
лихорадка	26,8325	от 9,4611 до 76,0996	< 0,0001	93,22	66,12

Se – чувствительность, Sp – специфичность, О ПТП – основные противотуберкулезные препараты, О и Р ПТП – основные и резервные противотуберкулезные препараты.

Как следует из таблицы 2, нами выявлены клинические и лабораторные признаки, связанные с неблагоприятным исходом туберкулеза с ВИЧ-инфекцией. Группа из одиннадцати признаков с наибольшим показателем ОШ варьируется от 8,7 (слабость) до 26,8 (лихорадка). В эту группу признаков входит и кандидоз ЖКТ, ОШ равно 14,7 при чувствительности – 72,9% и специфичности – 84,5%, то есть вероятность неблагоприятного исхода у больного туберкулезом с ВИЧ-инфекцией с наличием кандидоза ЖКТ в 14,7 раза выше, чем без него ($P < 0,0001$). Аналогично и для одышки – 15,6, при чувствительности – 79,7% и специфичности – 79,9%, гепатомегалии – 15,9, 91,5% и 59,5%, снижение аппетита – 17,0, 69,5% и 88,2%, похудание – 18,8, 72,9% и 87,5%, для выраженной степени клинических проявлений – 19,1, 83,1% и 79,6%, жидкий стул

– 25,4%, 40,7% и 97,4%, лихорадка – 26,8%, 93,2% и 66,1% соответственно ($P < 0,0001$). Стоит обратить внимание на коэффициент сопряженности 0,321 ($P < 0,0001$, $\chi^2 = 41,605$) для жидкого стула и кандидоза ЖКТ. Поражение ЖКТ у ВИЧ-инфицированных лиц с клиническим проявлением в виде жидкого стула не всегда вызывается грибами рода *Candida*, однако повышает вероятность неблагоприятного исхода у больного туберкулезом с ВИЧ-инфекцией в 25,4 раза.

ВЫВОДЫ

В данном исследовании мы выявили группу клинических признаков с наибольшей чувствительностью и специфичностью, высоковероятные и связанные с неблагоприятным исходом туберкулеза с ВИЧ-инфекцией: кандидоз ЖКТ ОШ равно 14,7 при

чувствительности – 72,9% и специфичности – 84,5%, одышка – 15,6, 79,7% и 79,9%, гепатомегалия – 15,9, 91,5% и 59,5%, снижение аппетита – 17,0, 69,5% и 88,2%, похудание – 18,8, 72,9% и 87,5%, для выраженной степени клинических проявлений – 19,1, 83,1% и 79,6%, жидкий стул – 25,4%, 40,7% и 97,4%, лихорадка – 26,8%, 93,2% и 66,1% соответственно ($P < 0,0001$).

Таким образом, кандидоз ЖКТ – важный предиктор неблагоприятного исхода у больных туберкулезом с ВИЧ-инфекцией, в 14,7 раз повышающий неблагоприятный исход у пациентов с туберкулезом и ВИЧ-инфекцией, чем у лиц без кандидоза ЖКТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Mugusi S.F., Ngaimisi E., Janabi M.Y., et al.* Risk factors for mortality among HIV-positive patients with and without active tuberculosis in Dar es Salaam, Tanzania. *Antivir Ther.* 2012; 17 (2): 265-74. doi: 10.3851/IMP1956.
2. *Njuguna I.N., Cranmer L.M., Wagner A.D., et al.* Brief report: cofactors of mortality among hospitalized hiv-infected children initiating antiretroviral therapy in Kenya. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2019; 81 (2): 138-144. doi: 10.1097/QAI.0000000000002012.
3. *Chan C.K., Wong K.H., Lee M.P., et al.* Risk factors associated with 1-year mortality among patients with HIV-associated tuberculosis in areas with intermediate tuberculosis burden and low HIV prevalence. *Hong Kong Med J.* 2018; 24 (5): 473-483. doi.org/10.12809/hkmj187303
4. *Gamboa-Acuna B., Guillen-Zambrano R., Lizzetti-Mendoza G., et al.* Factors associated to survival in patients with HIV-TB in the Department of Infectious Diseases of the Arzobispo Loayza National Hospital, Peru, since 2004 to 2012. *Rev. Chilena Infectol.* 2018; 35 (1): 41-48. doi.org/10.4067/s0716-10182018000100041
5. *Naidoo K., Yende-Zuma N., Augustine S.* A retrospective cohort study of body mass index and survival in HIV infected patients with and without TB co-infection. *Infect Dis Poverty.* 2018; 7 (1): 35. doi.org/10.1186/s40249-018-0418-3
6. *Demitto F.O., Schmaltz C.A.S., Sant'Anna F.M., et al.* Predictors of early mortality and effectiveness of antiretroviral therapy in TB-HIV patients from Brazil. *PLoS One.* 2019; 14 (6): 0217014. doi.org/10.1371/journal.pone.0217014
7. *Sattler F.R., Chelliah D., Wu X., et al.* Biomarkers associated with death after initiating treatment for tuberculosis and HIV in patients with very low CD₄ cells. *Pathog Immun.* 2018; 3 (1): 46-62. doi.org/10.20411/pai.v3i1.235
8. *Rossetto M., Brand É.M., Teixeira L.B.* Factors associated with hospitalization and death among TB/HIV co-infected persons in Porto Alegre, Brazil. *PLoS One.* 2019; 14 (1): 0209174. doi.org/10.1371/journal.pone.0209174
9. *Ланг Т.А., Сесик М.* Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов. пер. с англ под ред. В.П. Леонова. М.: Практическая медицина, 2011; 480 с. [Lang T.A., Sesik M. How to describe statistics in medicine. Annotated guide for authors, editors and reviewers. Translated from English under the editorship of V.P. Leonov. M.: Practical Medicine, 2011; 480 p. (In Russ)].
10. *Петри А., Сэйбин К.* Наглядная медицинская статистика. пер. с англ. под ред. В. П. Леонова. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009; 168 с. [Petri A., Sabin K. Visual medical statistics. Translated from English under the editorship of V.P. Leonov. 2nd ed., reprint. Moscow: GEOTAR-Media, 2009; 168 p. (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 09.01.2021

Рецензент: М.А. Шевяков

КЛИНИКО- ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАК- ТЕРИСТИКА И ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ЗООАНТРО- ПОНОЗНОЙ ТРИХОФИТИЕЙ

Имамов О.С. (доцент, главный врач), Абду-
вахитова И.Н. (дерматовенеролог)*, Тохтаев
Г.Ш. (дерматовенеролог), Джумаев Н.Д.
(врач-лаборант)

Ташкентский областной кожно-венерологический диспан-
сер, Ташкент, Узбекистан

Зооантропонозная трихофития – высококонтагиозное, социально значимое грибковое заболевание, выявляемое преимущественно у детей. В статье представлены данные по клинической картине и путях заражения 250 больных в возрасте от 2 месяцев до 50 лет. Преобладали инфильтративные 52 (20,8%) и нагноительные формы 96 (38,4%) Tinea capitis et corporis с распространенными поражениями. Trichophyton verrucosum обнаружен у 78,6% пациентов, T. mentagrophytes – у 21,4%. Установлены повышение содержания ИЛ-8, ФНО-α и снижение показателей ИЛ-2, ИЛ-4. Отмечена зависимость изменений от возраста больных, длительности и клинической формы заболевания. Показатели цитокинов могут быть расценены как факторы, определяющие прогноз клинического течения трихофитии.

Ключевые слова: зооантропонозная трихофития, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, керион Цельса, цитокины, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО-α

CLINICAL-EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND CYTOKINE STATUS IN PATIENTS WITH ZOO- ANTHROPONOUS TRICHOPHYTOSIS

Imamov O.S. (associate professor, chief physi-
cian), Abdvakhitova I.N. (dermatovenerolo-
gist), Tokhtaev G.Sh. (dermatovenerologist),
Dzumaev N.D. (laboratory doctor)

Tashkent Regional Skin and Venereal Diseases Dispensary,
Tashkent, Uzbekistan

Zoanthropo-nous trichophytosis is a highly contagious, socially significant fungal disease, diagnosed mainly in children. The data on the clinical picture, routes of infection in 250 patients aged from 2 months to 50 years are presented. Infiltrative 52 (20,8%) and suppurative forms 96 (38,4%) of Tinea capitis et corporis with widespread lesions prevailed. Trichophyton verrucosum was found in 78,6% of patients; T.

* Контактное лицо: Абдувахитова Индира Нуруллаевна,
e-mail: miss.doctor.1684@mail.ru

mentagrophytes – in 21,4%. The increase of the content of IL-8, TNF-α and a decrease in IL-2, IL-4 were found. The dependence of changes on the age of patients, duration and clinical form of the disease was noted. Indicators of cytokines can be regarded as factors that determine the prognosis of the clinical course of trichophytosis.

Key words: zooanthropo-nous trichophytosis, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, Kerion celsi, cytokines, IL-2, IL-4, IL-8, TNF-α

ВВЕДЕНИЕ

Трихофития, обусловленная *Trichophyton verrucosum* и *Trichophyton mentagrophytes* – социально значимое, высококонтагиозное заболевание из группы дерматомикозов [1-3]. Дерматомикозы (ДМ) вызывают интерес в силу разнообразия возбудителей и клинической картины, склонности к быстрому распространению [1]. По частоте ДМ лидируют в структуре инфекционных дерматозов, составляя от 37 до 42% всех болезней кожи и ногтей, и являются общей проблемой здравоохранения в мире [4]. Особое значение в связи с высокой контагиозностью, большой вовлеченностью детей и наличием суппуративных форм имеют дерматофитии с поражением волос, вызываемые зоофильными возбудителями *Trichophyton* и *Microsporum*, их соотношение [1-4]. В большинстве регионов Европы, стран СНГ и в России к наиболее часто встречающимся микозам в педиатрической практике относится микроспория [3, 4, 5-11]. В России ежегодно регистрируют до 50 тыс. детей, больных микроспорией, заболеваемость детей трихофитией значительно уступает микроспории [1, 9]. По данным официальной статистики, в России заболеваемость микроспорией в 2005-2018 гг. составляла 45,9-47,9 на 100 000 населения, трихофитией: 2,1 на 100 000 нас. – в 2005 г. и 1,6 на 100 000 нас. – в 2018 г. [12]. Заболеваемость трихофитией неодинакова и в разных регионах мира, и в отдельных областях конкретной страны [4-10]. Так, в 2009 г. в РФ отмечено 1,8 случаев на 100 000 населения, с преимущественным заражением детей от 0 до 14 лет [9, 13], в то же время в областях, где ЗАТ составляла 70-85% всех форм трихофитии, показатели заболеваемости были значительно выше: в Северо-Кавказском федеральном округе – 14,7 на 100 000 нас., Республике Тыва – 21,3, Республике Алтай – 15,3, Республике Саха (Якутия) – 5,6, Республике Башкортостан – 4,3 [9, 13].

В странах Центральной Азии уровень заболеваемости трихомикозами выше, хотя в динамике последних лет имеет место некоторое снижение. Так, в республике Таджикистан за 2013-2017 гг. заболеваемость трихофитией снизилась на 26% (с 19,3 до 15,3 на 100 000 населения), средние показатели заболеваемости трихофитией составляли 15,1 на 100 000 нас., по микроспории отмечали снижение на 22% (с 15,6 до 12,4) – в среднем показатель заболеваемости за 5

лет составил 18,8 на 100 000 населения. В то же время в Согдийской области Таджикистана, наоборот, повысилась заболеваемость трихомикозами – на 27% (с 20,8 на 100 000 нас. в 2013 г. до 26,5 – в 2017 г.), в том числе при трихофитии – на 25%, при микроспории – на 47% [14].

В Республике Узбекистан за период 2009-2018 гг. показатели заболеваемости трихофитией возросли с 22,0 до 29,3 на 100 (в 1,3 раза), микроспорией – с 1,3 до 4,5 в 2018 (в 3,4 раза). Выявлено неравномерное распределение данных микозов в областях: по микроспории – от 0,2-0,4 до 27,8 на 100 000 населения (в г. Ташкенте – 13,5), по трихофитии – от 10,3 на 100 000 нас. (в г. Ташкенте – до 42,7-54,8) на 100 000 нас. в отдельных областях [15].

Зооантропофильная трихофития (ЗАТ) занимает особое место среди дерматофитий, так как является природно-очаговым микозом, во многих регионах Африки ЗАТ остается эндемичной инфекцией, но в последние 10-20 лет ситуация с распространением возбудителей изменилась и в промышленно развитых странах Европы и Америки [3, 13]. Характерны эпидемические вспышки с выраженной сезонностью [1, 11]; зависимость от природно-географических и социально-экономических особенностей региона, традиционного уклада жизни населения, развития животноводства, санитарно-ветеринарного контроля, миграции населения [2, 10, 11, 13, 15-17]. По мнению специалистов, низкая заболеваемость ЗАТ связана с недооценкой эпидемиологической ситуации в каждом конкретном регионе как в РФ, так и во всем мире [13].

Изменения видового состава возбудителей трихомикозов с преобладанием зооантропофильных грибов определяют направление противоэпидемических мероприятий и имеют важное значение в клиническом течении микоза. В последние годы участились случаи тяжелых нагноительных поражений на волосистой части головы (керия), на лице и гладкой коже [3, 18-22]. Глубокие формы микроспории регистрируют реже [5, 9, 11], наиболее частой причиной инфильтративно-нагноительных поражений как у детей, так и у взрослых являются *Trichophyton verrucosum* и *Trichophyton mentagrophytes* [3, 17, 18, 21-28]. Характерны атипичные клинические проявления и локализация [14, 18, 29-32], осложненные бактериальной инфекцией, аллергическими реакциями [18, 33], что связывают с иммунологическим дисбалансом; подчеркивается роль цитокинов [5, 34-40].

Цель исследования – изучение клинико-эпидемиологических особенностей и продукции цитокинов при разных вариантах течения зооантропофильной трихофитии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические наблюдения проводили в 2018-2019 гг. в Ташкентском областном кожно-венерологическом диспансере у 250 больных зооантропофильной трихофитией (ЗАТ). Возраст пациентов – от 2 месяцев до 50 лет. Диагноз подтверждали микроскопическим (КОН) и культуральными методами. Поверхностно-пятнистую форму ЗАТ выявили у 102 человек (40,8%), инфильтративную – у 52 (20,8%), инфильтративно-нагноительную – у 96 (38,4%). Для качественного и количественного анализа микробиоты кожи применяли методы смывов по Williamson et Kligman (2001) с использованием высокоселективных питательных сред (кровяной агар, желточно-солевой агар, Сабуро, Эндо). Определяли концентрацию ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО- α в сыворотке крови с помощью иммуноферментных тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия). Статистическую обработку осуществляли методом вариационной статистики с вычислением средней арифметической ошибки и критерия Стьюдента, используя прикладные программы Excel-2000.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В возрастной структуре преобладали дети дошкольного и школьного возраста: до 1 года – 2 ребенка (0,8%), 1-6 лет – 50 (20%), 6-14 лет – 78 (31,2%). Студентов колледжей 15-18 лет было 30 (12,0%), взрослых старше 18 лет – 90 (36,0%). Сельские жители составляли 92,9%. У 76 (30,4%) заражение произошло при контакте с больными животными, в остальных случаях – при непосредственном бытовом контакте с больными и через предметы обихода (одежда, спортивный инвентарь). Дети дошкольного и младшего школьного возраста чаще инфицировались в «семейных» эпидемиологических очагах (47 семей); подростки и городские жители – в школьных и спортивных секциях; 45 (18,0%) больных с локализацией очагов в аногенитальной области заразились от полового партнера. При самообращении заболевание выявили у 117 человек (46,8%), при обследовании контактных лиц – у 133 (53,2%). Выделены культуры у 112 (44,8%) больных, из них *T. verrucosum* – у 88 (78,6%), *T. mentagrophytes* – у 44 (21,4%). Клиническая картина характеризовалась множественными очагами поражения различной локализации (табл. 1). Большинство пациентов – 129 (51,6%), были привлечены к лечению в первые 7-14 дней заболевания, в сроки от 15 до 30 дней – 71 (28,4%), через 1-2 месяца – 38 (15,2%), свыше 2 месяцев – 12 (4,8%). Причинами позднего выявления были самолечение и диагностические ошибки.

Таблица 1
Клиническая характеристика зооантропонозной трихофитии

Характеристика патологического процесса	Число больных		
	ППТ n=102	ИТ n=52	ИНТ n=96
по локализации			
Микоз бороды и головы (<i>Tinea barbae et capitis</i>)	10	32	48
Микоз туловища (<i>Tinea corporis s. circinata s. cutis</i>)	75	10	12
Сочетанные формы поражения гладкой кожи и волосистой части головы (<i>Tinea barbae et capitis et corporis</i>)	10	2	6
Микоз аногенитальной локализации (<i>Tinea of anogenital area</i>)	7	8	30
по распространенности поражения			
Множественные очаги поражения (от 3 до 15), сливные	89	37	52
Одиночные поражения (1-2 очага)	13	15	44
по клиническим симптомам			
Без нарушения общего состояния, только кожные симптомы	102	52	61
Интоксикация, повышение температуры, лимфаденит, боль	-	-	35
Осложнения: экзематизация, узловатая и многоформная эритема	-	-	10

У 35 (36,5%) больных с нагноительной формой трихофитии наблюдали регионарный лимфаденит, общую интоксикацию, повышение температуры тела до 38-39 °С, болезненность в очагах. При слиянии очагов на гладкой коже отмечали обширные участки поражения с фестончатыми очертаниями, выраженным периферическим воспалительным валиком, вовлечением пушковых волос, с фурункулоподобными и гранулематозными образованиями (фото 1-6).

Сопутствующие заболевания (анемия, пиодермии, гонорея, трихомоноз, кандидоз) были у 59 (23,6%) больных. При исследовании симбионтной микробиоты в содержимом пустул при инфильтративно-нагноительной трихофитии в 45 (86,5%) случаях высевали *Staphylococcus aureus* – 44 (28,1%), *Staphylococcus epidermidis* – 26 (16,6%), *Staphylococcus haemolyticus* – 13 (8,28%), реже – грамотрицательные условно-патогенные микроорганизмы кишечной группы.



Рис. 1. Инфильтративно-нагноительная трихофития, *Tinea capitis*, Kerion celsi.

Рис. 2. Множественные очаги инфильтративно-нагноительной трихофитии.



Рис. 3. Глубокая язва после разрешения кериона.

Рис. 4. Зооантропонозная трихофития, поверхностно-пятнистая форма.



Рис. 5. Инфильтративная форма зооантропонозной трихофитии.

Рис. 6. Распространенные очаги *Tinea corporis* при зооантропонозной трихофитии.

Уровни цитокинов в сыворотке крови исследовали у 90 пациентов в возрасте от 15 до 30 лет. При сравнении показателей с контролем и в возрастных подгруппах выявлены разнонаправленные изменения концентраций различных цитокинов (табл. 2). У пациентов в возрасте 21-26 лет (2 группа) уровни ИЛ-2 и ФНО-α были достоверно ниже, а содержание ИЛ-8 достоверно выше, чем у больных в возрастных группах 15-20 лет (1 группа) и >26 лет (3 группа).

Таблица 2
Уровень цитокинов в сыворотке крови у больных трихофитией (M±m)

Показатели	Контроль, n=33	Больные трихофитией, n=90			
		всего	15-20 лет, (1гр) n=32	21-26 лет, (2гр) n=25	>26 лет, (3) n=33
ИЛ-2, пкг/мл	2,11±0,12	0,85±0,10*	1,01±0,19 [^]	0,44±0,12 ^{^"}	1,00±0,15 [^]
ИЛ-4, пкг/мл	2,74±0,25	0,64±0,08*	0,48±0,09 [^]	0,46±0,10 [^]	0,91±0,11 [^]
ИЛ-8, пкг/мл	2,31±0,22	35,8±5,05*	42,2±7,42 [^]	43,5±7,95 ^{^"}	23,7±4,64 [^]
ФНО-α, пкг/мл	0,67±0,18	1,48±0,45*	1,66±0,41 [^]	0,59±0,16 ^{^"}	1,97±0,47 [^]

Примечание: достоверными считали различия p<0,05; * – достоверность данных по отношению к контролю; [^] – между 1 и 2-группами; ^{^"} – между 2 и 3 группами.

Изменения цитокинового статуса были наиболее выраженными при инфильтративно-нагноительной форме (табл. 3).

Таблица 3
Концентрация цитокинов в сыворотке крови у больных трихофитией в зависимости от клинических форм (M±m)

Показатели	Контроль, n=33	Поверхностная (ППТ)	Инфильтративная (ИТ)	Инфильтративно-нагноительная (ИНТ)
ИЛ-2, пкг/мл	2,11±0,12	1,23±0,19* [^]	1,07±0,16* [^]	0,64±0,12* [^]
ИЛ-4, пкг/мл	2,74±0,25	1,49±0,18* [^]	1,46±0,17* [^]	2,71±0,11 [^]
ИЛ-8, пкг/мл	2,31±0,22	32,2±5,42* [^]	40,5±3,95* [^]	42,7±4,37* [^]
ФНО-α, пкг/мл	0,67±0,18	1,46±0,51* [^]	1,23±0,25* [^]	1,07±0,35* [^]

Примечание: достоверными считали различия $p < 0,05$; * – по отношению к контролю; [^] – между ППТ, ИТ, ИНТ; [^] – между ИТ и ИТ

Так, уровень ИЛ-2 при поверхностно-пятнистой трихофитии (ППТ) снижался в 1,7 раза по сравнению с контролем, при инфильтративной форме – в 1,97 раза, при инфильтративно-нагноительной – в 3,3 раза ($p < 0,05$). Концентрация ФНО-α повышалась при всех формах: при поверхностной – в 2,2 раза, при инфильтративной – в 1,8 раза, при инфильтративно-нагноительной – в 1,6 раза ($p < 0,05$). Продукция ИЛ-4 снижалась при поверхностных и инфильтративных вариантах, но у больных с инфильтративно-нагноительной формой не отличалась от контроля. Концентрация ИЛ-8 повышалась при всех формах микоза, максимально – при инфильтративно-нагноительной форме и кериионе (в 18,5 раза по сравнению с контролем).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние десятилетия интерес специалистов к зооантропонозной трихофитии возрастает и касается всех аспектов проблемы: демографических особенностей, эпидемиологии и видового состава возбудителей, клинических манифестаций и терапии [3, 4, 9, 23, 31-33]. Тенденция роста заболеваемости наблюдается в странах Европы [3, 19, 26], Центральной Азии [15, 21, 34], Африки [16, 17], Индии [25], Пакистане [35], Бразилии [10], странах СНГ (Южном Казахстане, Таджикистане), Северо-Кавказском, Уральском регионах России, Республике Башкортостан [4-7, 9, 13, 14, 23]. Узбекистан относится к числу регионов с высоким распространением трихофитии, интенсивный показатель в 2018 г. был в 6,5 раз выше, чем при микроспории [28, 36]. Основные возбудители заболевания – *T. verrucosum* (биологическим хозяином которого является крупный рогатый скот, лошади) и *T. mentagrophytes* (передается от мышевидных грызунов, часто – от кошек и собак) [28, 36], с высокой протеолитической и кератолитической активностью [18, 19, 37]. Оба возбудителя у человека вызывают острые гнойные поражения кожи, лица, волосистой части головы и бороды [1, 3,

11, 20-22, 32, 35, 38, 39]. В возрастной структуре преобладают дети препубертатного возраста [1, 9, 11, 16, 17, 33], участились случаи заболевания у новорожденных [22, 40] и взрослых [23, 41], в том числе с нетипичной аногенитальной локализацией процесса [12, 23, 31, 42]. Большинство исследователей указывают на современный клинический патоморфоз микоза [5, 13, 24, 26, 30]. В наших наблюдениях, наряду с классическими симптомами заболевания, отмечали случаи «агрессивного» течения с осложнениями абсцедированием, язвенной пиодермией, микотической экземой. При неблагоприятном течении *Kerion celsi* возможно развитие стойкой рубцовой атрофии волосяных фолликулов [1, 3, 24]. Более чем у половины больных инфильтративно-нагноительной трихофитией выявляли общую интоксикацию, лимфаденит, а также вторичное инфицирование бактериальной микрофлорой. По разным данным, из очагов нагноительной трихофитии высевается *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* (35,5%), *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* (19,4%) [13]. Blömer R.H. и соавт. (2012) описали тяжелые симптомы глубокой трихофитии у младенца, вызванной *T. verrucosum* с суперинфекцией cMRSA (community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) [22]. Ассоциации с бактериальной микрофлорой считаются важным фактором неблагоприятного течения трихофитии и являются следствием снижения активности врожденного и приобретенного иммунитета.

Состояние иммунного ответа при трихофитии привлекает внимание многих исследователей с позиций изучения патогенеза разных форм и оптимизации терапии. Отмечены изменения как гуморального (слабопротективный), так и клеточного (протективный) типов иммунного ответа [5, 9].

Клеточно-опосредованный иммунный ответ ассоциирован с развитием гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на антигены грибов-возбудителей. Формирование ГЗТ и развитие реакций по типу «гранулематозного» воспаления считают единственным эффективным механизмом защиты при микозах, вызываемых «первично-патогенными» грибами [44]. Клеточный и гуморальный иммунные ответы при ЗАТ различаются по механизмам защитной активности и угнетают друг друга. Формирование у больного того или иного варианта иммунного ответа зависит от разных факторов, в том числе и генетически детерминированных. При ЗАТ угнетение клеточного иммунного ответа сопровождается интенсивным накоплением специфических антител в условиях более тяжелого течения микотической инфекции (трансформация ИТ в ИТ) [43].

В процессе взаимодействия иммунокомпетентных клеток важная роль принадлежит цитокинам, регулирующим процессы воспаления, заживления и регенерации тканей [5, 29, 44]. ЗАТ у больных со-

проводятся существенными изменениями способности лимфоцитов крови к продукции цитокинов под влиянием антигенов грибов-возбудителей, поэтому данные аспекты требуют более глубокого изучения [44].

Исследуемые в данной работе ИЛ-2, ИЛ-8, ФНО- α относятся к провоспалительным цитокинам, продуцируются Th1-лимфоцитами и контролируют клеточный иммунный ответ, активируя цитотоксические CD 8⁺ Т-лимфоциты [28, 30, 44].

Полученные в ходе данного исследования результаты свидетельствуют о том, что ИЛ-2 достоверно снижался при всех клинических формах, особенно при инфильтративно-нагноительной трихофитии. Сниженные значения ИЛ-2 указывают на слабость клеточно-опосредованного иммунитета и не препятствуют прогрессированию патологического процесса. Мухамадеева О.Р. и соавторы приводят данные изменения спектра продукции цитокинов на ранних этапах заболевания с накоплением ИЛ-2 [34]. Авторы считают, что на начальных этапах ЗАТ ИЛ-2 и ИФН- γ обеспечивают запуск процессов формирования клеточного иммунного ответа. В процессе лечения и регресса заболевания синтез этих цитокинов уменьшается [34].

Противовоспалительные цитокины ИЛ-4 и ИЛ-10 продуцируются Т-хелперами 2-го типа (Th2) и подавляют продукцию провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-8, ИЛ-2 и ИФН- γ [27, 28, 44, 45]. В наших исследованиях у больных с поверхностными очагами поражения и небольшим сроком давности заболевания уровень ИЛ-4 был достоверно ниже, чем при инфильтративно-нагноительной форме и длительности свыше 2 месяцев. Можно предположить, что низкие уровни ИЛ-4 не ингибируют активность фагоцитарных клеток, что благоприятно влияет на течение ЗАТ.

Важное значение в патогенезе ЗАТ имеют провоспалительный цитокин ИЛ-8 и ФНО- α , которые являются активирующими и хемоаттрактантными факторами для нейтрофилов, моноцитов и Т-клеток [9]. В нашем исследовании уровни ИЛ-8 и ФНО- α были достоверно выше по сравнению с контрольными показателями на всех сроках наблюдения пациентов с различными формами ЗАТ, что является признаком выраженной воспалительной реакции.

ФНО- α продуцируется активированными Th1 и усиливается под влиянием ИФН- γ . Высокая концентрация ФНО- α связана с низкой концентрацией ИЛ-4 и достаточным количеством активированных Th1. Наряду с ИЛ-8 отражает остроту течения воспалительного процесса. Воспалительная реакция, маркерами которой являются ИЛ-8 и ФНО- α , относятся к защитным реакциям организма, направленным на элиминацию патогена [5, 27-29, 44, 45].

Таким образом, при зооантропонозной трихофитии отмечаются разнонаправленные изменения концентраций исследованных цитокинов. В целом, по результатам предварительных исследований можно заключить, что при трихофитии с увеличением срока заболевания наблюдается снижение активности клеточного иммунного ответа, наиболее выраженное при инфильтративно-нагноительной форме микоза.

ВЫВОДЫ

1. Зооантропонозная трихофития остается актуальной медико-социальной проблемой в связи с высокой контагиозностью и распространенностью среди детей и взрослых. Недооценка современных эпидемиологических факторов и особенностей инфицирования при атипичных формах микоза на фоне миграции населения из регионов с высоким уровнем заболеваемости создают предпосылки для дальнейшего распространения микоза.

2. В клинической структуре ЗАТ возрастает доля больных инфильтративной и инфильтративно-нагноительной формами, с множественными поражениями с различной, в том числе нетипичной генитальной локализацией, общей интоксикацией, аллергическими реакциями, реже – рубцовой алопецией. Трансформация инфильтративных форм в нагноительные сопровождается достоверно измененными иммунологическими показателями, что указывает на целесообразность совершенствования методов комплексного лечения таких больных.

3. Изучение уровней цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО- α в сыворотке крови представляет интерес для понимания патогенеза тяжелых форм трихофитии и разработки адекватных схем иммунотерапии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Уфимцева М.А. Дерматомикозы у детей. Учебное пособие. Екатеринбург, 2017: 117 с. [Ufimtseva M.A. Dermatomycosis in children. Training manual. Yekaterinburg, 2017: 117 p. (In Russ)].
2. Hora F.S., Darabus G., Badea C., et al. Epidemiological, clinical and therapeutic aspects of the infestation with *Trichophyton* spp. (Fungi: *Eurotiomycetes: Arthrodermataceae*). *Sci Parasitol*. 2015; 16 (1-2): 28-32.
3. John A.M., Schwartz R.A., Janniger C.K. The kerion: an angry tinea capitis. *International Journal of Dermatology*, 2016: 1-16. doi.org/10.1111/ijjd.13423
4. Ахмедова С.Д. Ретроспективный анализ заболеваемости поверхностными микозами кожи в районах Большого Кавказа Азербайджана. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 96 (6): 1038-1042. [Akhmedova S.D. Retrospective

analysis of the incidence of superficial skin mycoses in the Greater Caucasus regions of Azerbaijan. *Kazan Medical Journal*. 2015; 96 (6): 1038-1042 (In Russ)].

5. *Каробаева А.Т.* Современные особенности клиники, эпидемиологии, иммунных механизмов трихофитии, микроспории и усовершенствование терапии. Автореф. дисс...д.м.н. Алма-Аты, 2010: 20 с. [Karibaeva A.T. Modern features of the clinic, epidemiology, immune mechanisms of trichophytosis, tinea capitis and improvement of therapy. Abstract. diss ... Doctor of Medical Sciences. Alma-Ata, 2010: 20 p.].

6. *Платонов А.В., Козлова А.В., Мельниченко Н.Е. и др.* Особенности течения трихофитии в Амурской области. *Сибирский журнал дерматологии и венерологии*. 2016; 17: 53-54. [Platonov A.V., Kozlova A.V., Melnichenko N.E., et al. Features of the trichophytia course in the Amur region. *Siberian Journal of Dermatology and Venereology*. 2016; 17: 53-54 (in Russ)].

7. *Глузмин М.И., Шевченко А.Г., Егорова Е.В. и др.* Особенности эпидемиологической ситуации по трихофитии с учетом эксклюзивности ее выявления. Сборник «Актуальные вопросы инфекционной патологии юга России». Материалы II Межрегионального научно-практфорума. 2017: 45-46. [Glusmin M.I., Shevchenko A.G., Egorova E.V., et al. Features of the epidemiological situation of trichophytosis, taking into account the exclusivity of its detection. Collection "Topical issues of infectious pathology of the South of Russia". Materials of the II Interregional Scientific and Practical Forum. 2017: 45-46 (In Russ)].

8. *Хамаганова И.В., Новожилова О.Л., Беличков А.Н.* Эпидемиология трихофитии в Москве. *Клиническая дерматология и венерология*. 2017; 16 (1): 4-9. [Khamaganova I.V., Novozhilova O.L., Belichkov A.N. Epidemiology of trichophytosis in Moscow. *Clinical dermatology and venereology*. 2017; 16 (1): 4-9 (In Russ)].

9. *Щелкунова О.А.* Клинико-эпидемиологические особенности микроспории и трихофитии и подходы к лечению. Дисс...к.м.н. Новосибирск, 2013: 99 с. [Shchelkunova O.A. Clinical and epidemiological features of tinea capitis and trichophytosis and approaches to treatment. Diss...candidate of medical Sciences, Novosibirsk, 2013: 99 p. (In Russ)].

10. *Silva-Rocha W.P., de Azevedo M.F., Chaves G.M.* Epidemiology and fungal species distribution of superficial mycoses in Northeast Brazil. *J. Mycol. Med*. 2017; 27 (1): 57-64. doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.08.009

11. *Куляев К.А., Епифанова А.Ю., Каткова И.О. и др.* Клинико-диагностические параллели инфильтративно-нагноительной микроспории и глубокой трихофитии. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2013; 9 (3): 601-604. [Kulyaev K.A., Epifanova A.Yu., Katkova I.O., et al. Clinical and diagnostic parallels of infiltrative-suppurative Tinea capitis and deep trichophytosis. *Saratov Scientific and Medical Journal*. 2013; 9 (3): 601-604 (In Russ)].

12. *Здравоохранение в России*. 2019: Стат. Сб. Росстат. М., 2019: 170 с. [Healthcare in Russia. 2019: Stat. Sat. Rosstat. M., 2019: 170 s. (In Russ)].

13. *Хисматуллина З.Р., Альхашаш Субхи М.С., Айдыбаева М.Г. и др.* Клинические проявления зооантропонозной трихофитии. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 5 [Khismatulina Z.R., Alkhashash Subhi M.S. The clinical manifestations of zoonthropous trichophytosis. *Modern problems of science and education*. 2020; 5 (In Russ)].

14. *Амакджанов М.Р.* Эпидемиология, клинико-патогенетические особенности и лечение трихофитии и микроспории лобково-генитальной области у взрослых. Дисс...к.м.н. Душанбе, 2019: 116 с. [Amakdzhanov M.R. Epidemiology, clinical and pathogenetic features and treatment of trichophytosis and Tinea capitis of the pubic-genital region in adults. Diss...candidate of medical Sciences, Dushanbe, 2019: 116 p.].

15. *Абидова З.М., Имамов О.С., Собиркулов Ш.У., Жуманов Д.Х.* Эпидемиология трихофитии в Республике Узбекистан. *Дерматовенерология и эстетическая медицина*. 2018; 2: 35-37. [Abidova Z.M., Imamov O.S., Sobirkulov Sh.U., Zhumanov D.H. Epidemiology of trichophytosis in the Republic of Uzbekistan. *Dermatovenerology and aesthetic medicine*. 2018; 2: 35-37].

16. *Zamani S., Sadeghi G., Yazdinia F., et al.* Epidemiological trends of dermatophytosis in Tehran, Iran: A five-year retrospective study. *J. Mycol. Med*. 2016; 26 (4): 351-358. doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.06.007

17. *Pérez-Tanoira R., Marín I., Berbegal L., et al.* Mycological profile of tinea capitis in schoolchildren in rural southern Ethiopia. *Med. Mycol*. 2017; 55 (3): 262-268. doi.org/10.1093/mmy/myw061

18. *Хисматуллина З.Р., Альхашаш Субхи М.С.* К вопросу о клиническом многообразии зооантропонозной трихофитии волосистой части головы. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 3. [Khismatulina Z.R., Alkhashash Subhi M.S. On the question of the clinical diversity of zoonthropous trichophytosis of the scalp. *Modern problems of science and education*. 2020; 3 (In Russ)].

19. *Hay R.J.* Tinea capitis: current status. *Mycopathologia*. 2017; 182 (1-2): 87-93. doi.org/10.1007/s11046-016-0058-8

20. *Bassyouni R.H., El-Sherbiny N.A., Abd E.I., et al.* Changing in the epidemiology of tinea capitis among school children in Egypt. *Ann. Dermatol*. 2017; 29 (1): 13-19. doi.org/10.5021/ad.2017.29.1.13

21. *Mayser P.* Dermatophyte: Current situation. *Hautarzt*. 2017; 68 (4): 316-323. doi.org/10.1007/s00105-017-3933-4

22. *Kirsten H., Haiduk J., Nenoff P., et al.* Tinea barbae profunda due to *Trichophyton mentagrophytes*: case report and review. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*. 2019: 18 p. doi.org/10.1007/s00105-019-4407-7

23. *Wendrock-Shiga G., Mechtel D., et al.* Tinea barbae profunda due to *Trichophyton mentagrophytes* after journey to Thailand: Case report and review. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete.* 2017; 68 (8): 639-648. doi.org/10.1007/s00105-017-4008-2
24. *Chokoeva A.A., Zisova L., Sotiriou E., Miteva-Katrandzhieva T.* Tinea capitis: a retrospective epidemiological comparative study. *Wien Med. Wochenschr.* 2017; 167 (3-4): 51-57. doi.org/10.1007/s10354-016-0493-7
25. *Czaika V.A., Lam P.A.* *Trichophyton mentagrophytes* cause underestimated contagious zoophilic fungal infection. *Mycoses.* 2013; 56 (1): 33-7. doi.org/10.1111/myc.12069
26. *Ferguson L., Fuller L.C.* Spectrum and burden of dermatophytes in children. *J. Infect.* 2017; 74 (1): S54-S60. doi.org/10.1016/S0163-4453(17)30192-5
27. *Ziegler W., Lempert S., Goebeler M., Kolb-Mäurer A.* Tinea capitis: temporal shift in pathogens and epidemiology. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2016; 14 (8): 818-25. doi.org/10.1111/ddg.12885
28. *Wollina U., Hansel G., Uhrhlaß S., et al.* Deep facial mycosis due to *Trichophyton verrucosum* – molecular genetic identification of the dermatophyte in paraffin-embedded tissue – case report and review of the literature. *Mycoses.* 2018; 61 (3). doi.org/10.1111/myc.12719
29. *Нусипов Е.Е.* Сравнительное изучение заболеваемости дерматофитиями атипичной (паховой) локализации по странам ближнего зарубежья и бывшего СНГ (обзор). *Наука о жизни и здоровье» (вестник АГИУВ). Алматы, 2017.* [Nusipov E.E. Comparative study of the incidence of dermatophytes of atypical (inguinal) localization in the countries of the near abroad and the former CIS (review). *The Science of Life and Health" (Bulletin of the AGIUV). Almaty, 2017].*
30. *Atzori L., Pau M., Aste N., Aste N.* Dermatophyte infections mimicking other skin diseases: a 154-person case survey of tinea atypica in the district of Cagliari (Italy). *Int. J. Dermatol.* 2012; 51 (4): 410-415. doi.org/10.1111/j.1365-4632.2011.05049.x
31. *Dutta B., Rasul E.S., Boro B.* Clinico-epidemiological study of tinea incognito with microbiological correlation. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2017; 83 (3): 326-331. doi.org/10.4103/ijdv.IJDVL_297_16
32. *Zhan P., Liu W.* The changing face of dermatophytic infections worldwide. *Mycopathologia.* 2017; 182 (1-2): 77-86. doi.org/10.1007/s11046-016-0082-8
33. *Blömer R.H., Keilani N., Faber A., Rodeck B., et al.* Tinea capitis profunda due to *Trichophyton verrucosum* with CMRSA superinfection in infant. *Der Hautart.* 2012; 63 (8): 648-652. doi.org/10.1007/s00105-012-2326-y
34. *Мухаммадеева О.Р., Медведев Ю.А., Хисматулина З.Р., Даниленко Р.У.* Иммунологические особенности зооантропонозной трихофитии. *Успехи медицинской микологии.* 2014; 13: 138-141. [Mukhamadeeva O.R., Medvedev Yu.A., Khismatulina Z.R., Danilenko R.U. Immunological features of zooanthroponous trichophytosis. *Advances in medical mycology.* 2014; 13: 138-141 (In Russ)].
35. *Исмаилова Г.А., Джураев И.А., Вараев У.Г.* Клинико-иммунологическая оценка комплексной терапии зооантропонозной трихофитии. *Журнал теоретической и клинической медицины.* 2017; (1): 124-127. [Ismailova G.A., Juraev I.A., Vараev U.G. Clinical and immunological evaluation of a complex therapy of zooanthroponoses trichophytosis. *Journal of Theoretical and Clinical Medicine.* 2017; (1): 124-127 (In Russ)].
36. *Мухаммадеева О.Р., Хисматулина З.Р., Медведев Ю.А.* Эффективность применения иммуномодулятора «Имунофан» при комплексном лечении больных зооантропонозной трихофитией. *Вестник современной клинической медицины.* 2014; 7 (1): 31-34. [Mukhamadeeva O.R., Khismatulina Z.R., Medvedev Yu.A. The effectiveness of the immunomodulator "Imunofan" in the complex treatment of patients with zooanthroponous trichophytosis. *The Bulletin of contemporary clinical medicine.* 2014; 7 (1): 31-34 (In Russ)].
37. *García-Romero M.T., Arenas R.* New insights into genes, immunity, and the occurrence of dermatophytosis. *J. Invest. Dermatol.* 2015; 135 (3): 655-657. doi.org/10.1038/jid.2014.498
38. *Даниленко Р., Хисматуллина З., Мухаммадеева О., Медведев Ю.* Иммунный статус больных зооантропонозной трихофитией. *Врач.* 2016; 7: 32-36. [Danilenko R., Khismatullina Z., Mukhamadeeva O., Medvedev Yu. The immune status of patients with zooanthroponoses trichophytosis. *Doctor.* 2016; 7: 32-36 (In Russ)].
39. *Мухаммадеева О.Р., Хисматуллина З.Р., Медведев Ю.А.* Индукция синтеза цитокинов лимфоцитами крови у больных зооантропонозной трихофитией, обусловленная антигенами трихофитонов. *Цитокины и воспаление.* 2013; 12 (1): 99-101. [Mukhamadeeva O.R., Khismatullina Z.R., Medvedev Yu.A. The induction of the cytokines synthesis by peripheral blood lymphocytes in patients with zooanthroponoses trichophytosis caused by antigens *Trichophyton*. *Cytokines and inflammation.* 2013; 12 (1): 99-101 (In Russ)].
40. *Усубалиев М.Б., Койбагарова А.А., Ибраимова А.Д. и др.* Комплексное лечение больных инфильтративно-нагноительной трихофитией волосистой части головы с учетом иммунного статуса. *Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева (Бишкек).* 2018; 1: 49-52. [Usubaliev M.B., Koibagarova A.A., Ibraimova A.D., et al. Complex treatment of patients with infiltrative-suppurative trichophytosis of the scalp, taking into account the immune status. *Bulletin of the I. K. Akhunbayev KSMU (Bishkek).* 2018; 1: 49-52].

41. Salari S., Ayatollahi Mousavi S.A., Hadizadeh S., Izadi A. Epidemiology of dermatomycoses in Kerman province, southeast of Iran: A 10-years retrospective study (2004-2014). *Microb. Pathog.* 2017; 110: 561-567. doi.org/10.1016/j.micpath.2017.07.043
42. Hameed K., Riaz Ch.F., Nawaz M.A., et al. *Trichophyton verrucosum* infection in livestock in the Chitral district of Pakistan. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2017; 11 (4): 326-333. doi.org/10.3855/jidc.7925
43. Bakardzhiev I., Chokoeva A., Tchernev G., et al. Tinea profunda of the genital area. Successful treatment of a rare skin disease. *Dermatologic therapy.* 2016; 29 (3): 181-3. doi.org/10.1111/dth.12311
44. Medvedeva T.V., Chilina G.A., Leina L.M. Experience of using griseofulvin in the child below 1 year of age with tinea capitis. *European Journal of pediatric dermatology.* 2015; 25: 24-26.
45. Резниченко Н.Ю., Веретельник А.В., Кравчук А.Н. и др. Клинические случаи tinea capitis у лиц постпубертантного возраста. *Украинский журнал дерматологии, венерологии, косметологии.* 2015; 1 (56): 105-113. [Rez-nichenko N.Yu., Veretelnik A.V., Kravchuk A.N., et al. Clinical cases of tinea capitis in post-pubertal individuals. *Ukrainian Journal of Dermatology, Venereology, Cosmetology.* 2015; 1 (56): 105-113].

Поступила в редакцию журнала: 15.12.2020

Рецензенты: Е.В. Фролова, Т.В. Медведева

СЛУЧАЙ МУЛЬТИСИСТЕМНОГО ГИСТИОЦИТОЗА ИЗ КЛЕТОК ЛАНГЕРГАНСА У ВЗРОСЛОГО ПАЦИЕНТА

¹Корнишева В.Г. (профессор кафедры)*, ¹Раводин Р.А. (доцент), ²Чипан Л.Л. (зав. отделением), ²Прудникова Д.Ю. (врач-ординатор)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра дерматовенерологии); ²Городской кожно-венерологический диспансер, Санкт-Петербург, Россия

Гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) является редким воспалительным, неопластическим заболеванием из миелоидных дендритных клеток с формированием специфических инфильтратов в различных органах и тканях. В статье представлено описание клинического случая у 36-летнего мужчины, страдающего мультисистемным гистиоцитозом из клеток Лангерганса с поражением кожи, легких, гипофиза в течение 19 лет, с целью повышения осведомленности врачей об этом орфанном заболевании и возможности диагностики кожного ГКЛ на ранних стадиях.

Ключевые слова: гистиоцитоз из клеток Лангерганса, гистиоцитоз X у взрослых

CASE OF MULTISYSTEMIC LANGERHANS CELL HISTIOCYTOSIS IN ADULT PATIENT

¹Kornisheva V.G. (professor of the department), ¹Ravodin R.A. (associate professor), ²Chipan L.L. (head of the clinical department), ²Prudnikova D.Yu. (resident physician)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (department of dermatovenerology); ²City Skin and Venereology Dispensary, St. Petersburg, Russia

Langerhans cell histiocytosis (HCL) is a rare inflammatory, neoplastic disease of myeloid dendritic cells with the formation of specific infiltrates in various organs and tissues. In this article, we describe a 36-year-old man who has suffered from multisystem Langerhans cell histiocytosis with skin, lung, and pituitary gland lesions for 19 years, in order to raise awareness among physicians about this orphan disease and the possibility of diagnosing cutaneous HCL in the early stages.

Key words: Langerhans cell histiocytosis, histiocytosis X in an adult

* Контактное лицо: Корнишева Вера Гавриловна, e-mail: v.g.kornisheva@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Гистиоцитоз клеток Лангерганса (ГКЛ), ранее называемый гистиоцитозом X, представляет собой редкое воспалительное, неопластическое заболевание из миелоидных дендритных клеток, экспрессирующих иммунофенотип, положительный для CD1a, лангерина (CD207) и S100, и имеющих цитоплазматические гранулы Бирбека [1]. Исторически гистиоцитоз включал четыре заболевания: болезнь Леттерера-Сиве, болезнь Хэнда-Шюллера-Кристиана, эозинофильную гранулему и врожденный самовосстанавливающийся ретикулогистиоцитоз (болезнь Хашимото-Притцкера), которые, имея различные клинические проявления, объединяли сходные патоморфологические изменения в виде инфильтрации ткани гистиоцитами [2]. Позднее он получил название «гистиоцитоз X», что свидетельствовало о неустановленном источнике данных гистиоцитов. Исходя из сходства иммунофенотипических маркеров (CD1a и CD207) и данных электронной микроскопии (обнаружения гранул Бирбека), долгое время считали, что гистиоцитоз возникает из клеток Лангерганса кожи – первичных антиген-презентирующих клеток эпидермиса. Однако более поздние исследования экспрессии генов показали, что неопластические клетки при гистиоцитозе происходят из незрелых миелоидных клеток-предшественников костного мозга [3]. В 1987 г. Общество по изучению гистиоцитоза предложило классификацию, в которой все заболевания из этой группы разделены на связанные с клетками Лангерганса и не связанные с ними (злокачественные). В 2016 г. была разработана новая классификация гистиоцитозов, которая отражает нынешнее понимание молекулярных механизмов возникновения заболеваний и их клинические особенности. В соответствии с этой классификацией выделяют 5 категорий гистиоцитозов: Лангерганса (включает в том числе гистиоцитоз из клеток Лангерганса), кожный и кожно-слизистый, злокачественный, болезнь Rosaie-Dorfman, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз и синдром макрофагальной активации [4].

В настоящее время гистиоцитоз из клеток Лангерганса подразделяется на форму с вовлечением одного органа/системы (одно- или мультифокальное поражение) и мультисистемный вариант (когда задействованы два или более органа/системы) [5].

Вначале предполагали, что патогенез ГКЛ является вирусным или иммунологическим, однако тот факт, что 55-60% пациентов с ГКЛ содержат мутацию BRAF V600E, определил его неопластический статус. Белок BRAF принадлежит к семейству серин/треонин киназ RAF и представляет собой ключевой компонент сигнального пути протеинкиназы MAPK (RAS-RAFMEK-ERK), активация которой ведет к повышению экспрессии генов, обеспечива-

ющих пролиферацию и выживание клеток. Канцерассоциированная мутация (BRAF V600E) определяется более чем у половины исследованных образцов, что подтверждает опухолевое происхождение ГКЛ и предполагает возможную терапевтическую роль в лечении этого заболевания ингибиторов BRAF [1-3, 6-8].

В микологической клинике Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования (ныне – Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова) с 1985 г. находилось на обследовании 4 больных: женщина 45 лет и 3 детей в возрасте от 1 года и 9 месяцев до 6 лет, из них 1 мальчик и 2 девочки, которые поступили с диагнозом кандидоза кожи, паховой складки и аногенитальной области. После микологического обследования диагноз кандидоза пациентам был исключен.

У женщины с ожирением и несхарным диабетом имелась глубокая язва в правой паховой области с умеренной болезненностью, которой был поставлен диагноз эозинофильной гранулемы. У девочки (1 года и 9 месяцев) с гипотрофией была диссеминированная форма гистиоцитоза, протекающая с периодическим подъемом температуры, увеличением печени, селезенки, лимфатических узлов и геморрагической сыпью на волосистой части головы, туловища и конечностях.

Диагноз эозинофильной гранулемы был поставлен в педиатрической клинике после гистологического исследования двум детям 5 и 6 лет, у которых имелись резко болезненные изъязвления: у мальчика – в перианальной области, у девочки – в области промежности. Проводимая в микологической клинике наружная противовоспалительная мазевая терапия была неэффективной. После назначения системной глюкокортикостероидной терапии высыпания разрешились.

Учитывая отсутствие специфических для гистиоцитоза кожных проявлений, редкость встречаемой патологии, диагноз гистиоцитоза остается проблемой для практикующих врачей, и проходит несколько лет после начала заболевания прежде, чем будет поставлен диагноз больному и назначено лечение.

Приводим клиническое наблюдение.

Больной А., 36 лет, поступил в дерматологическое отделение СПб ГБУЗ «Городской кожно-венерологический диспансер» 15.09.2020 г. с жалобами на высыпания в подмышечных впадинах, правой паховой области, на волосистой части головы, которые сопровождались чувством зуда, жжения и болезненностью.

Из анамнеза известно, что с 2001 г. пациенту был диагностирован гистиоцитоз легких, хроническое течение. В 2001, 2003, 2005 гг. проведена двусторонняя плеврэктомия по поводу повторных спонтанных пневмотораксов. Диагноз гистиоцитоза

легких был подтвержден гистологическим и иммуногистохимическим методами. При проведении в 2020 г. спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки с последующим построением реформаций изображения (MPR) отмечали умеренную отрицательную динамику по сравнению с данными предыдущего КТ-исследования, проведенного два года назад. Выявлена двусторонняя кистозная перестройка легочной ткани с ретикулярными изменениями. Кистозные изменения обнаружены в 21% правого легкого и в 18,8% – слева. В S3 левого легкого отмечали хирургические скрепы. Внутригрудные и подмышечные лимфатические узлы не увеличены. Ствол легочной артерии расширен – 39 мм. Заключение: КТ-картина не противоречит диагнозу гангренозного гистиоцитоза легких. С 2002 г. больной наблюдается у пульмонолога с диагнозом: Гистиоцитоз Х. Дыхательная недостаточность I степени. Хроническое легочное сердце компенсированное. Легочная гипертензия I степени.

В 2003 г. у пациента диагностирован несхарный диабет, в связи с чем назначен ингаляционный десмопрессин 0,1 мг в сутки.

С 2002 г. больной получал системную глюкокортикостероидную терапию на протяжении нескольких месяцев в году, часто нерегулярно. Со слов мужчины, на протяжении последних 6-ти месяцев принимал метилпреднизолон (4 мг) по схеме: по 3 таблетки (четные дни) и 1 таблетка (нечетные дни). Последний прием закончил за 14 дней до поступления в отделение. По рекомендации пульмонолога в течение месяца принимал азатиоприн (50 мг) по 1 таблетке x 2 раза в неделю. За 2 месяца до поступления в отделение пациент самостоятельно прекратил прием препарата.

Кожные высыпания появились в 2010 г., когда мужчина впервые отметил сыпь в подмышечных впадинах. По поводу пиодермии дерматологом был назначен цефтриаксон с положительным эффектом. В 2013 г. появились высыпания в паховой области, подмышечных впадинах, по поводу которых больной получал системную и наружную антибактериальную терапию с положительным эффектом. С 2014 г. кожный процесс стал носить рецидивирующий характер с обострениями 1-2 раза в год, по поводу которых пациент самостоятельно применял наружные и системные антибактериальные препараты, но высыпания уже не разрешались. Диагноз гистиоцитоза кожи был подтвержден в 2015 г. гистологическим исследованием и иммуногистохимическим окрашиванием, при котором выявили наличие клеток CD1a+. Настоящее обострение началось 2 месяца назад в виде усиления гиперемии, появления инфильтрации кожи подмышечных впадин и язвы в правой пахово-бедренной области. Больной обратился в КВД по месту жительства, откуда с диагнозом

«пиодермия» был направлен на госпитализацию в ГорКВД.

Общий осмотр. Состояние удовлетворительное, по кожному процессу – средней степени тяжести, сознание ясное. ЧСС – 73 ударов в минуту. АД – 115/73 мм рт. ст. Дыхание ослабленное. Тоны сердца приглушены, ритмичные, шумов нет. Язык обложен белым налётом. Живот мягкий, безболезненный, участвует в акте дыхания, симптомов раздражения брюшины нет. Край печени, мягкий, безболезненный, не выходит за пределы реберной дуги. Периферические лимфатические узлы не увеличены, безболезненные, подвижные, плотноэластические. Слизистая оболочка полости рта чистая, без высыпаний.

Локальный статус. Кожный процесс носил распространенный, симметричный характер и находился в стадии обострения. Высыпания локализовались на коже волосистой части головы, груди, в области подмышечных впадин, в правой паховой области. На коже волосистой части головы, преимущественно в лобной и теменной областях, имелись множественные мелкие папулезные высыпания диаметром 1-2 мм, желтовато-коричневого цвета, иногда с геморрагическим компонентом, некоторые из которых покрыты геморрагическими корочками (Рис. 1).

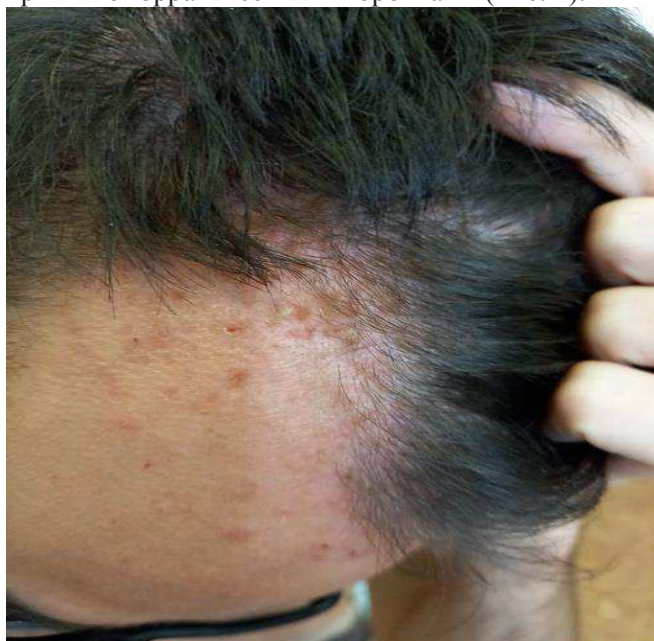


Рис. 1. В лобно-теменной области – множественные мелкие папулезные высыпания диаметром 1-2 мм, желтовато-коричневого цвета, некоторые покрыты геморрагическими корочками.

На коже груди – единичные фолликулярные пустулы размером с булавочную головку, с гнойным содержимым. В подмышечных складках на фоне резко инфильтрированных, гиперемированных бляшек размером 5,0x2,5см – эрозирование с мацерацией и гнойным налетом. Консистенция бляшек мягкая (Рис. 2).



Рис. 2. В левой подмышечной области определяется инфильтрированная бляшка размером 5,0x2,5 см с эрозированием, мацерацией и гнойным налетом.

В правой пахово-бедренной складке – глубокая конусообразная, слабоболезненная, темно-красного цвета язва с небольшим гнойным налетом, размером 2,0x1,5 см, с отвесными, четкими краями (Рис. 3). Ногтевые пластины на кистях к свободному краю истончены, розовой окраски, с явлениями ониходистрофии (платонихия, онихорексис) (Рис. 3).

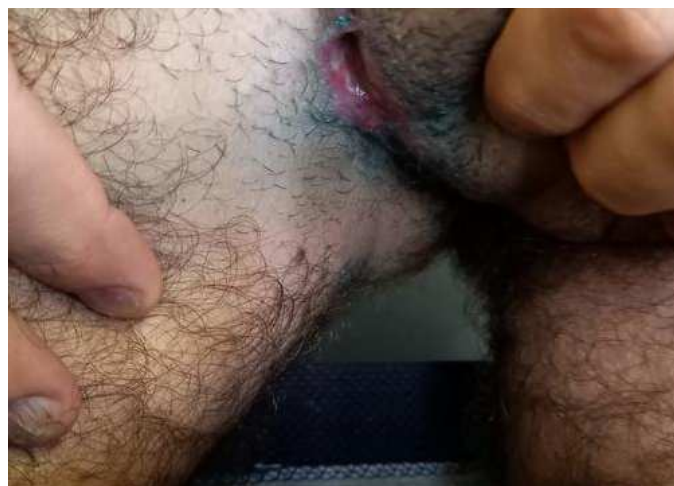


Рис. 3. В правой пахово-бедренной складке – глубокая темно-красного цвета язва размером 2,0x1,5 см с отвесными, четкими краями. Ногтевые пластины II, III пальцев правой кисти истончены к свободному краю с явлениями ониходистрофии (платонихия, онихорексис).

Клинический анализ крови: лейкоциты – $10,2 \times 10^9$ /л (эозинофилы – 2%, лимфоциты – 16%), эритроциты – $4,91 \times 10^{12}$ /л, гемоглобин – 157 г/л, тромбоциты – 245×10^9 /л, СОЭ – 19 мм/ч.

Биохимический анализ крови: АЛТ – 34,2 Ед/л, АСТ – 41,7 Ед/л, холестерин – 4,3 ммоль/л, билирубин общий – 16,7 мкмоль/л, глюкоза – 4,53 ммоль/л, креатинин – 100 мкмоль/л, общий белок – 69,8 г/л, С-реактивный белок – 3,0 мг/л.

Общий анализ мочи без патологии.

При посеве гнойного отделяемого получен обильный рост метициллин-резистентного *Staphylococcus haemolyticus*, чувствительного к норфлоксацину, линезолиду, и рост *Enterococcus faecalis*, чувствительного к ампициллину, ципрофлоксацину, линезолиду.

Больному был поставлен диагноз: Вторичная пиодермия. Гистиоцитоз из клеток Лангерганса, мультисистемный вариант с поражением кожи, легких, нервной системы и назначено лечение.

Проведено лечение: антибактериальная терапия (азитромицин – 500 мг в течение 5 дней, цефазолин – по 500 мг внутримышечно 3 раза в день, курс – 7 дней, метронидазол – 100 мл внутривенно капельно, курс – 5 дней) на фоне введения преднизолона (внутривенно капельно с 200 мл 0,9% раствора хлорида натрия), начальная доза которого была 90 мг. По мере разрешения кожного процесса дозу преднизолона постепенно снижали до 30 мг с последующим переходом на таблетированную форму препарата. С целью улучшения микроциркуляции пациент получал ангиопротекторы (пентоксифиллин, дротаверин). По поводу несахарного диабета продолжен прием ингаляционного десмопрессина (по 0,1 мг в сутки). Местное лечение: туширование 1% раствором Methylthioninium chloride, порошок Bismutum tribromphenylicum, 1% крем Сульфадиазина серебра, гель Солкосерил. Из физиотерапевтического лечения больной получил ультрафиолетовое облучение кожи области складок, курс токов Д'арсонваля на кожу волосистой части головы и лобной области.

По истечении 22 дней пациент выписан с разрешением вторичной пиодермии и высыпаний в подмышечных впадинах, рубцеванием язвы в паховой области с рекомендациями продолжить прием преднизолона, под наблюдение дерматовенеролога, пульмонолога, эндокринолога по месту жительства, при прогрессировании заболевания – онкогематолога.

ОБСУЖДЕНИЕ

Гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) может поражать любой орган или систему, чаще – кости, кожу и гипофиз. Реже вовлекаются лимфатические узлы, печень, селезенка, кишечник, центральная нервная система и кроветворная система. Легкие могут поражаться одновременно или последовательно с другими органами, но изолированный легочный гистиоцитоз из клеток Лангерганса часто встречается у взрослых и может перерасти в мультисистемное поражение. У представленного нами пациента заболевание началось в 17 лет в виде легочного ГКЛ, спустя 2 года присоединилось поражение гипофиза (несахарный диабет), и через 7 лет появились кожные высыпания, таким образом, ГКЛ приобрел мультисистемное течение.

Клинические проявления ГКЛ варьируют в зависимости от пораженного органа или системы, могут разрешаться самостоятельно или иметь хроническое рецидивирующее течение с последующим вовлечением новых систем, что наблюдали у нашего пациента, у которого заболевание началось как легочный ГКЛ, в виде повторных спонтанных пневмотораксов. Быстро прогрессирующая форма, характерная для детского возраста, у взрослых обычно не встречается. Саркома из клеток Лангерганса (злокачественный гистиоцитоз) может возникнуть *de novo* или из предшествующего гистиоцитоза из клеток Лангерганса [8]. Варианты лечения ГКЛ варьируют в зависимости от распространенности заболевания и тяжести течения. Одна из главных проблем ГКЛ у взрослых – это множество потенциально пораженных органов, что требует привлечения к обследованию и лечению больного врачей разных специальностей. Гистиоцитоз из клеток Лангерганса может протекать бессимптомно или демонстрировать только легкие симптомы. Наиболее часто пациентов беспокоят одышка, кашель, боли в костях, аномальный рост мягких тканей над пораженной костью, сыпь, кожный зуд, усиленная жажда и лимфаденопатия. Возможны дополнительные признаки – утомляемость, общая слабость, похудание, ночная потливость, тошнота и лихорадка [9].

На основании отчетов гистопатологических исследований и регистров интерстициальных заболеваний легких распространенность легочного ГКЛ составила около 5% в этой популяции [9]. Легочный ГКЛ поражает в основном молодых, преимущественно курящих людей (> 90%), с пиком заболеваемости в 20-40 лет и характеризуется незначительным преобладанием женщин [10]. Из анамнеза жизни нашего больного известно, что он стал вновь курить в течение последнего года, что, вероятно, способствовало прогрессированию ГКЛ в легких (по данным КТ-исследования).

У пациентов с легочным ГКЛ часто наблюдается непродуктивный кашель или одышка, боли в груди, сопутствующие неспецифические симптомы, такие как усталость, потеря веса, ночная потливость и лихорадка [10]. У 20% больных с легочным ГКЛ заболевание изначально протекает бессимптомно и нередко выявляется при профилактических осмотрах или после спонтанного пневмоторакса [10, 11]. Описанному нами пациенту диагноз «легочный ГКЛ» был поставлен в 2001 г. после двусторонней плеврэктомии по поводу спонтанного пневмоторакса. Диагноз ГКЛ основывается на гистологическом и иммуногистохимическом исследованиях биоптата из очага поражения. У больного диагноз легочного и кожного ГКЛ был подтвержден гистологическим и иммуногистохимическим исследованиями с выявлением клеток CD1a+.

Обычно клетки Лангерганса положительно окрашиваются на CD1a и / или Лангерин [3, 5]. Окончательный диагноз ГКЛ выставляется на основании клинико-патологических доказательств с положительным микроскопическим исследованием на одну из следующих иммунологических окрасок: Лангерин (CD 207), CD1a или обнаружение гранул Бирбека при проведении электронной микроскопии [8].

Предполагаемый диагноз легочного ГКЛ основывается только на клинико-радиологических доказательствах, без биопсии, как в случае, например, легочных поражений на компьютерной томографии с типичными кистами и узелками курильщика (однако биопсия должна выполняться для достижения более точного диагноза) [8].

У пациента был диагностирован мультисистемный ГКЛ, так как были поражены кожа, легкие, и гипофиз. Поражение кожи – частое проявление ГКЛ, являющимся первым признаком заболевания, о котором сообщается в 80% случаев [3, 5]. Особенностью данного случая было появление кожных высыпаний ГКЛ спустя 10 лет после начала легочного ГКЛ.

Обычно кожные поражения ГКЛ носят неспецифический характер и описываются как шелушащиеся, эритематозные, себорейные папулезные высыпания коричневатого или красного цвета, помимо папул могут быть пустулы, пузырьки, петехии или пурпура. Наиболее часто поражается кожа волосистой части головы, туловища, складок [3, 5]. У представленного нами больного на волосистой части головы с переходом на кожу лба имелись характерные для ГКЛ папулы диаметром 1-2 мм, желтовато-коричневого цвета, некоторые – покрытые геморрагическими корочками.

Поражение складок кожи является вторым признаком по частоте развития при ГКЛ. Могут вовлекаться любые складки: паховые, подмышечные, под молочными железами, межъягодичные, а также область шеи и заушные складки. Сыпь сначала бывает представлена эритематозными пятнами и папулами, но быстро прогрессирует с формированием очень болезненного потрескавшегося интертриго, к которому присоединяется суперинфекция. Часто поражение в складках может быть в виде эрозий на фоне разлитой эритемы [3]. В подмышечных складках у пациента имелись эрозированные бляшки с мацерацией и вторичной пиококковой инфекцией, обусловленной метициллин-резистентным *Staphylococcus haemolyticus*. В течение последних 10 лет мужчина периодически консультировался у дерматолога, который назначал лечение по поводу пиодермии. Последние 6 лет проводимое антибактериальное лечение было неэффективным, в связи с чем проведено гистологическое исследование, на основании результатов которого поставлен диагноз кожного ГКЛ. Од-

нако дерматологи, которые в дальнейшем консультировали больного, не связывали кожные высыпания с основным заболеванием ГКЛ. После того, как пациент прерывал глюкокортикостероидную терапию, происходило обострение кожных проявлений, которые осложнялись вторичной инфекцией. Таким образом, наличие неподдающейся лечению пиодермии в крупных складках является показанием для проведения гистологического исследования. Как только в стационаре больной стал получать глюкокортикостероидную терапию в сочетании с антибиотиками, высыпания стали быстро разрешаться.

Частым кожным признаком ГКЛ является наличие язвы в паховых складках или ано-генитальной области. Из 5 наблюдаемых нами пациентов у двух взрослых и двух детей имелись единичные язвы в паховых складках и ано-генитальной области, которые у детей сопровождались выраженной болезненностью, из-за чего было проблематично проводить осмотр и их обработку.

Поражение ногтей возникает редко, но оно возможно в виде паронихий, онихолизиса, подногтевого гиперкератоза и пурпурных полос на ногтевом ложе [3, 5]. У представленного нами пациента имелась ониходистрофия на кистях в виде истончения и уплощения ногтевых пластин в сочетании с онихо-рексисом.

У взрослых несахарный диабет является наиболее частым эндокринным проявлением ГКЛ и встречается чаще, чем у детей [3, 5]. Из 5 наблюдаемых больных у двух взрослых имелся несахарный диабет, у трех детей это заболевание отсутствовало. Таким образом, наличие у взрослого с несахарным диабетом язвы в паховой складке, неподдающейся местному лечению, является показанием для проведения дифференциального диагноза с ГКЛ.

Поражение слизистой оболочки полости рта проявляется отеком и эрозивно-язвенным поражением десен, расшатыванием зубов, что считается признаком поражения костной ткани челюстей [1, 3].

Рандомизированные испытания и новые подходы в лечении ГКЛ привели к улучшению результатов терапии больных детей, но до сих пор не разработаны методы лечения взрослых пациентов. Стандартных методов терапии ГКЛ у взрослых не существует [7]. Выбор лечения больных ЛКГ зависит от распространенности поражения, тяжести проявления болезни и от того, какие органы поражены [5].

Первичный легочный ЛКГ у взрослых напрямую связан с курением. Представленный пациент в течение последнего года возобновил курение, и по данным КТ легких выявлено прогрессирование патологического процесса. Поэтому отказ от курения должен быть главным приоритетом в лечении легочного ЛКГ у взрослых. У некурящих или пациентов с прогрессирующим заболеванием, несмотря на отказ от курения, показана системная терапия глюкокор-

тикостероидами или кладрибином (2-CdA) [7]. Назначенное лечение метилпреднизолоном пациент выполнял неаккуратно, что способствовало прогрессированию болезни. У пациентов с очень агрессивным ЛКГ, с необратимым поражением легких или тяжелой легочной гипертензией возможна трансплантации легких [7].

Если больной лечится от мультисистемного заболевания, то кожа будет также реагировать на терапию. При односистемном заболевании кожи или в редких случаях, когда кожа не может полностью реагировать на системное лечение при мультисистемном заболевании, существует ряд методов терапии, направленных конкретно на кожу. Эффективным средством лечения у детей является 20% азотистый иприт, нанесенный на кожу [8].

Наружная терапия с применением топических глюкокортикостероидов рекомендуется при ГКЛ с изолированным единичным поражением кожи, однако их эффект бывает недостаточным. Больным с кожным ГКЛ назначают еженедельный пероральный прием метотрексата с 6-меркаптопурином (или его пролекарством азатиоприном) или без него [3, 8]. Имеются опубликованные сообщения об использовании низких доз метотрексата либо в качестве монотерапии, либо в комбинации с азатиоприном или преднизолоном. Метотрексат успешно применяется в дозах 20 мг один раз в неделю [3, 8].

В отдельных случаях при лечении кожного ГКЛ эффективна фототерапия (псорален плюс ультрафиолет А (PUVA) и узкополосный ультрафиолет В (UVB) [3]. Но если высыпания располагаются в складках, на волосистой части головы, то фототерапию проводить сложно, а при наличии поражения половых органов она противопоказана.

У пациентов с кожными проявлениями при ГКЛ возможно назначение азатиоприна (метаболит 6-меркаптопурина (6-МП)). Перед началом лечения необходимо сдать анализ на тиопуридин S-

метилтрансферазу (ТПМТ). ТПМТ – ключевой фермент катаболизма меркаптопурина (6-МП). Мутации в гене ТПМТ приводят к снижению активности фермента и развитию тяжелой гематологической токсичности при приеме 6-МП в стандартных дозах (50-75 мг/м²/сут). Если активность фермента снижена, то при введении стандартных доз 6-МП образуется большое количество тиогуаниновых нуклеотидов, что в большинстве случаев приводит к возникновению тяжелых побочных эффектов. В случае ее нормальных значений, препарат назначают в дозе 2 мг/кг/сут. Эффективность оценивают через 6 недель [8].

В случаях рефрактерного мультисистемного заболевания с хорошим эффектом проводят таргетную терапию иматинибом, ингибитором тирозинкиназы, нацеленным на рецепторы, экспрессируемые при ГКЛ. Однако сообщалось также о неблагоприятных исходах, и лишь немногие эксперты рекомендуют иматиниб [7].

Течение легочного ГКЛ у взрослых широко варьируемо и в основном непредсказуемо у отдельных больных. Около 40-50% пациентов с легочным ГКЛ имеют благоприятный исход с частичным или полным исчезновением рентгенологических изменений на фоне терапии или без нее. Исходя из эпидемиологических данных, необходимо отказаться от курения [10], что было рекомендовано больному.

Прогноз ГКЛ основывается на возрасте пациента на момент начала болезни, количестве пораженных органов, их дисфункции и тяжести заболевания [4, 5, 7]. Гистиоцитоз из клеток Лангерганса остается чрезвычайно редким явлением у взрослых, часто проявляясь как мультисистемное заболевание, которое сложно, как диагностировать, так и лечить у взрослых пациентов, и только сотрудничество между врачами различных специальностей приведет к улучшению диагностики и терапии ГКЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Goodman W.T., Barrett T.L. Histiocytoses. In: Bologna J.L., Schaffer J.V., Cerroni L., editors. *Dermatology*. 4th ed. China: Elsevier; 2018. p. 1614-32.
2. Fronek L.F., Grubbs H., Dorton D.W., et al. Isolated cutaneous langerhans cell histiocytosis presenting in an adult male. *Cureus*. 2020; 12 (8): e9861. doi.org/10.7759/cureus.9861
3. Карамова А.Э., Чикин В.В., Знаменская Л.Ф. и др. Гистиоцитоз из клеток Лангерганса у взрослой пациентки. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2019; 95 (4): 57-66. [Karamova A.E., Chikin V.V., Znamenskaya L.F., et al. Histiocytosis from Langerhans cells in an adult patient. *Bulletin of Dermatology and Venereology*. 2019; 95 (4): 57-66 (In Russ)]. doi.org/10.25208/0042-4609-2019-95-4-57-66
4. Krooks J., Minkov M., Weatherall A.G. Langerhans cell histiocytosis in children: history, classification, pathobiology, clinical manifestations and prognosis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2018; 78: 1035-1044. doi.org/10.1016/j.jaad.2017.05.059
5. Girschikofsky M., Arico M., Castillo D., et al. Management of adult patients with Langerhans cell histiocytosis: recommendations from an expert panel on behalf of Euro-Histio-NetOrphanet *Journal of Rare Diseases* 2013, 8: 72. doi.org/10.1186/1750-1172-8-72
6. Tran G., Huynh T.N., Paller A.S. Langerhans cell histiocytosis: a neoplastic disorder driven by Ras-ERK pathway mutations. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2018, 78: 579-590. doi.org/10.1016/j.jaad.2017.09.022

7. Kobayashi M., Tojo A. Langerhans cell histiocytosis in adults: advances in pathophysiology and treatment. *Cancer Sci.* 2018, 109: 3707-3713. doi.org/10.1111/cas.13817
8. Крячок И.А., Скрипец Т.В., Новосад О.И., Новдах О.П. Терапевтические подходы к лечению взрослых пациентов с гистиоцитозом из клеток Лангерганса. *Клиническая онкология.* 2016; 1 (21): 58-62. [Kryachok I.A., Scripets T.V., Novosad O.I., Novdah O.P. Therapeutic approaches to the treatment of adult patients with histiocytosis of Langerhans cells. *Clinical oncology.* 2016; 1 (21): 58-62 (In Russ)].
9. Watanabe R., et al. Clinico-epidemiological features of pulmonary histiocytosis X. *Intern. Med.* 2001; 40 (10): 998-1003. doi.org/10.2169/internalmedicine.40.998
10. Tazi A. Adult pulmonary Langerhans' cell histiocytosis. *Eur. Respir. J.* 2006; 27 (6): 1272-1285. doi.org/10.1183/09031936.06.00024004

Поступила в редакцию журнала 07.02.2021

Рецензент: А.А. Вашкевич

ЛЕЧЕБНЫЕ ЭФФЕКТЫ ВЫСОКОИНТЕНСИВНОЙ ЛАЗЕРОТЕРАПИИ КЕЛОИДНЫХ РУБЦОВ

¹Курганская И.Г. (врач-дерматовенеролог)*,
¹Черкашина И.В. (зав. отделением),
²Ключарева С.В. (профессор кафедры)

¹Детский научно-клинический центр инфекционных болезней;
²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра дерматовенерологии), Санкт-Петербург, Россия

Многочисленные факторы формирования келоидных рубцов определяют их значительную распространенность в популяции взрослого населения, а многокомпонентный патогенез – трудности эффективной коррекции. Актуальна разработка эффективных методов высокоинтенсивной лазеротерапии (ВИЛТ), которые могут значительно уменьшить размеры и твердость рубцов, улучшить их микрорельеф, эластичность и васкуляризацию.

Цель исследования – определение лечебных эффектов различных комбинаций высокоинтенсивной лазеротерапии (ВИЛТ) у пациентов с келоидными рубцами кожи.

Методы. Обследовано 75 больных с формирующимися (N=42) и зрелыми (N=33) келоидными рубцами. У пациентов с формирующимися рубцами применяли селективный ангиофототермолиз желтым лазерным излучением ($\lambda=578$ нм), со зрелыми рубцами – комбинацию лазерного ангиофототермолиза и фракционного аблятивного фототермолиза импульсами высокоинтенсивного лазерного излучения инфракрасного диапазона ($\lambda=10,6$ мкм). Использовали клинические, дерматоскопические и инструментальные методы оценки функциональных свойств кожи рубцов.

Результаты. Выявлено улучшение эластичности, снижение чувствительности, твердости и толщины рубцовой ткани, улучшение микрорельефа и показателей васкуляризации. У пациентов с формирующимися келоидными рубцами селективный лазерный ангиофототермолиз оказывал выраженное ангиодеструктивное действие, а у больных со зрелыми келоидными рубцами комбинация ангиофототермолиза и фракционного аблятивного фототермолиза вызывала выраженный дефибрирующий лечебный эффект.

Заключение. Различные механизмы лечебного действия лазерного излучения высокой интенсивности определяют разную тактику использования ВИЛТ для коррекции келоидных рубцов, включающую последовательное применение различных методик.

Ключевые слова: келоидные рубцы, селективный ангиофототермолиз, фракционный аблятивный фототермолиз, углекислотный лазер, лазерный аппарат на парах меди

THERAPEUTIC EFFECTS OF HIGH-INTENSITY LASER THERAPY OF KELOID SCARS

Kurganskaya I.G. (dermatovenerologist)¹,
Cherkashina I.V. (head of the clinical department)¹, Kluchareva S.V. (professor of the department)²

¹Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases; ²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Numerous factors of keloid scars formation determine their significant prevalence in the adult population, and multicomponent pathogenesis – difficulties of effective correction. The development of effective methods of high-intensity laser therapy (HILT), which can significantly reduce the size and hardness of scars, improve their microrelief, elasticity and vascularization, is relevant.

Objective: to determine the therapeutic effects of various combinations of high-intensity laser therapy (HILT) in patients with keloid skin scars.

Methods: 75 patients with developing (N=42) and mature (N=33) keloid scars were studied. Selective angiophotothermolysis with yellow laser radiation was used in patients with developing scars ($\lambda=578$ nm), and in patients with mature scars – a combination of selective angiophotothermolysis and fractional ablative photothermolysis, pulses of high-intensity laser radiation in the infrared range ($\lambda=10.6$ μ m). Clinical, dermatoscopic and instrumental methods were used to assess the functional properties of the skin scars.

Results. Improvement of elasticity, reduction of sensitivity and hardness and thickness of scars, improvement of their microrelief and scar vascularization were revealed. In patients with emerging keloid scars angiophotothermolysis had expressed angiodestructive effect, and in patients with mature keloid scars, the combination of laser angiophotothermolysis and fractional ablative photothermolysis causes a pronounced defibrosive therapeutic effect.

Conclusion. Different mechanisms of the therapeutic effect of high-intensity laser radiation determine different tactics of using HILT for the correction of keloid scars, including the consistent use of various techniques.

Key words: keloid scars, selective angiophotothermolysis, fractional ablative photothermolysis, carbon dioxide lasers, copper-vapor laser

ВВЕДЕНИЕ

По данным ВОЗ, рубцовыми осложнениями страдает около 10% населения планеты, и их удельный вес неуклонно нарастает. В общей популяции патологических рубцов особое место занимают келоидные рубцы [1, 2]. По современным представлениям, частота келоидного рубцевания после оперативных вмешательств колеблется от 40 до 70%, а после ожоговой травмы – от 33 до 91%, в зависимости от глубины повреждений. Ведущими местными факторами келоидообразования являются вызыва-

* Контактное лицо: Курганская Инга Геннадьевна,
e-mail: manga-85@mail.ru

ющие воспалительную реакцию травмы, а также тканевая гипоксия и ишемия, которые на фоне наследственной дисплазии инициируют развитие процесса. При этом зонами повышенного риска развития келоидов являются область грудины, плеч, спины, мочки уха, углов нижней челюсти [3, 4].

Несмотря на малую долю в популяции больных (1,5-4,5%), в период формирования келоиды вызывают зуд, парестезии и болезненные ощущения. Частое расположение келоидов на открытых участках кожи, ведущее к стойким косметическим дефектам, снижает качество жизни пациентов, нередко приводя к развитию психоневрологических расстройств [5].

Келоидную рубцовую ткань формируют узлы исключительно коллагеновых волокон, которые образуют циркулярные и аркадные структуры со значительным числом пролиферирующих фибробластов, разделенных продольно расположенными коллагеновыми пучками. Большую часть этих соединительнотканых прослоек занимают сосуды с резко выраженным воспалением и облитерацией эндотелия, а сама прослойка окружает область рубцовой ткани собственной соединительнотканной капсулой [6, 7].

Основную роль в ремоделировании внеклеточного матрикса в процессе формирования зрелых рубцов играют нарушения ауторегуляторных механизмов в образовании соединительной ткани. Гипоксия, нарушение микроциркуляции в тканях усиливают пролиферативные процессы, что приводит к прогрессирующей стимуляции фиброгенеза и образованию в 3-5 раз большего количества функционально активных малодифференцированных патологических (гигантских) фибробластов, с усиленным метаболизмом, вырабатывающих в большом количестве коллаген и кислые мукополисахариды [8].

Сегодня в дерматокосметологии отсутствует единая терапевтическая тактика, оптимальная для коррекции всех келоидных рубцов [9]. На выбор вида методов коррекции, среди которых ведущую роль играет высокоинтенсивная лазеротерапия, влияют локализация, стадия процесса формирования рубца, глубина повреждения, размер, возраст пациента и ответная реакция, которые определяют вид используемого лазерного излучения [10-14].

Для коррекции формирующихся рубцов применяют преимущественно фибромоделирующие и вазоактивные методы, направленные на восстановление микроциркуляции, торможение синтеза коллагена и усиление местного дренажа тканей. Основные технологии коррекции зрелых рубцов обладают выраженным дефиброзирующим эффектом [15-18].

Несмотря на широкое использование в комплексной коррекции келоидных рубцов, методы высокоинтенсивной лазеротерапии (ВИЛТ) относят к

технологиям неопределенной эффективности [19, 20]. Основные лечебные эффекты, возникающие на тканевом уровне при использовании лазерных технологий, детально не изучены и нуждаются в комплексном научном анализе.

Цель исследования – определение лечебных эффектов различных комбинаций высокоинтенсивной лазеротерапии у пациентов с келоидными рубцами кожи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В амбулаторных условиях обследовано 75 пациентов (46 мужчин и 29 женщин в возрасте 18-47 лет (медиана – 34,2±4,5 лет), у которых были верифицированы келоидные рубцы различных размеров и глубины. Локализацию рубцов отмечали в области грудины, плеч, спины у 33 больных (44%), в области культи конечностей – у 28 (37%), в области лица и шеи – у 12 (16%). Период наблюдения – 6 месяцев. Более 80% рубцов имели площадь свыше 5 см².

Работа выполнена в дизайне многоцентрового проспективного обсервационного когортного сравнительного исследования. В соответствии с требованиями биомедицинской этики на участие в исследовании получено информированное согласие всех обследованных лиц. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России.

Критерии включения: возраст пациентов 18-7 лет; наличие келоидных рубцов, возникших спонтанно, без видимых первоначальных повреждений, после хирургических вмешательств, травм, ожогов, устойчивых к другим методам лечения; отсутствие противопоказаний для высокочастотной лазеротерапии; добровольное информированное согласие участников; высокая комплаентность (выполнение назначений врача) больных.

Критерии невключения: недавние (до 1 мес.) местные аппликации дефиброзирующих мазей и кремов, активные инсоляции, сопутствующие тяжёлые соматические и инфекционные заболевания или состояния, беременность и лактация; злокачественные новообразования; общие противопоказания для физиотерапии, другие виды рубцов.

В зависимости от сроков выделены группы пациентов с формирующимися рубцами (1-я группа, n=42) сроком существования до 1,5 года и зрелыми рубцами (2-я группа, n=33) с периодом формирования от 2 до 5 лет.

Обследование больных подгрупп наблюдения и сравнения выполняли при помощи комплекса клинических, инструментальных, лабораторных и психологических методов исследования.

Клинические методы включали оценку жалоб, сбор анамнеза, изучение объективного статуса пациентов с рубцами разных видов. Состояние рубцов определяли по Ванкуверской шкале оценки рубцов

(Vancouver scar scale, 1990). Выполняли балльную оценку васкуляризации, пигментации, эластичности и высоты/толщины рубца. Дополнительно изучали фототип кожи больного, формы и количества рубцов.

Инструментальные методы включали оценку функциональных свойств кожи при помощи многофункционального аппарата для диагностики Aramo SG (Южная Корея) (регистрационное удостоверение Росздравнадзора от 12.02.2015 №РЗН 2013/1253) по специализированной программе SkinXPPro (определение показателей влажности, чувствительности, гиперпигментации, микрорельефа кожи).

Толщину рубца устанавливали с помощью ультразвуковой доплеровской цифровой системы визуализации Affiniti 70 (Philips, Нидерланды) с линейным датчиком Transducer L12-5 50 (частота 13 МГц) (регистрационное удостоверение №РЗН 2016/4203 от 03.06.2016).

Состояние микроциркуляции определяли методом лазерной доплерографии. Лазерные доплеровские флоуграммы регистрировали и анализировали при помощи комплекса многофункционального лазерного диагностического «ЛЯКК-М» ("ООО НПП «ЛАЗМА», Россия, регистрационное удостоверение Росздравнадзора от 05.11.2009 №ФСР 2009/05953). По результатам анализа рассчитывали и оценивали постоянную составляющую кровотока M , переменную составляющую δ , а также коэффициент вариации кровотока K_v .

Протокол ВИЛТ у пациентов 1-й группы включал процедуру селективного ангиофототермолиза. Использовали импульсы желтого лазерного излучения с длиной волны 578 нм от лазерного аппарата на парах меди для селективной фотодеструкции сосудистых и пигментных дефектов кожи и слизистых оболочек «ЯХРОМА-Мед» (ФГБУ «Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, регистрационное удостоверение Росздравнадзора 08.08.2018 № ФСР 2008/03743). Длительность импульсов составила 29 нс, межимпульсных интервалов – 100 мкс, частота следования – 1 Гц, максимальная мощность излучения – 1,0 Вт. Размеры кругового пятна излучения – 1-3 мм. Продолжительность однократного воздействия на точку – 0,1-10 с, суммарного однократного облучения – до 2 мин, курс – 1-4 процедуры с перерывом в 2 недели.

У больных 2-й группы применяли последовательную комбинацию ангиофототермолиза и фракционный аблятивный фототермолиз области рубцов. Использовали аппарат на парах меди «ЯХРОМА-Мед» с длиной волны 578 нм с максимальной мощностью излучения 2,0 Вт (продолжительность однократного воздействия на точку – 0,1-10 с, суммарно – до 2 мин). Непосредственно после первого этапа осуществляли фракционный аблятивный фототер-

молиз импульсами высокоинтенсивного лазерного излучения инфракрасного диапазона ($\lambda=10,6$ мкм) от аппарата лазерного медицинского АЛМ-30-01 «Л Мед-1» со сканером для косметологии СК-К-03 (регистрационное удостоверение Росздравнадзора от 09.09.2014, №ФСР 2014/1923) с максимальной мощностью 3-5 Вт сфокусированным лучом диаметром 0,25-0,5 мм. Продолжительность процедуры составила 10-12 мин, курс – 3-4 комбинированных процедуры, проводимых через 3-4 недели.

Полученные данные изначально вводили в базу данных Excel (Microsoft, Redmond, Washington, США) с последующим анализом при помощи статистического пакета Windows, версия 13.0 (SPSS, Чикаго, Иллинойс, США). Анализ субъективных показателей выполняли с применением критерия χ^2 . Для сравнения клинических и инструментальных показателей использовали парный t-критерий. В связи с аномальным распределением параметров количественные данные представлены в виде медианы (Me) 25 и 75-го нижнего и верхнего квартилей (Q₂₅: Q₇₅). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Селективный ангиофототермолиз у пациентов 1-й группы значительно изменял преимущественно показатели васкуляризации, эластичности и высоты рубцов, цвета и чувствительности (динамика суммы баллов клинической оценки до и после лечения – $3,3 \pm 1,1$ балла, $p<0,05$), с тенденцией к изменению пигментации рубца (табл. 1).

Таблица 1

Динамика клинических показателей у пациентов с келоидными рубцами, баллы

Клинические показатели	1-я группа (n=42)		2-я группа (n=33)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Васкуляризация	2,8±0,4	1,5±0,5*	2,4±0,4	1,7±0,3*#
Пигментация	2,6±0,4	2,3±0,2	2,4±0,5	2,1±0,4
Эластичность	3,3±0,5	2,3±0,4*	3,1±0,4	2,5±0,3*#
Высота/толщина рубца	2,4±0,4	1,7±0,3*	2,7±0,5	1,6±0,4*#
Сумма баллов	11,1±0,9	7,8±0,7*	10,6±0,8	7,9±0,7*

* статистически достоверные различия между показателями до и после лечения с вероятностью нулевой гипотезы $p<0,05$; # – межгрупповые различия в группах наблюдения статистически значимы при $p<0,05$

Курс комбинированного воздействия селективного ангиофототермолиза и фракционного аблятивного фототермолиза у пациентов 2-й группы также значительно изменял васкуляризацию, эластичность и высоту рубцов (динамика суммы баллов клинической оценки до и после лечения – $2,7 \pm 1,0$ баллов, $p<0,05$) при тенденции к снижению степени их пигментации (табл. 1).

Динамика васкуляризации рубцов была более выражена у больных 1-й группы с исходно более выраженными нарушениями кровоснабжения, тогда как динамика показателей эластичности и высоты рубцов была более выражена у лиц 2-й группы. Различия в степени интегральной оценки клинического состояния рубцов в группах были статистически достоверны.

Под действием ВИЛТ значительно изменялись показатели функциональных свойств кожи. У пациентов 1-й группы наблюдали тенденцию к повышению влажности, значимое сглаживание рельефа рубца и снижение его чувствительности. Толщина рубца уменьшилась на 17%. Под действием высокоинтенсивного лазерного излучения в тканях больных 1-й группы происходило уменьшение степени общей перфузии тканей рубца, снижение постоянного компонента и, в большей степени, переменного компонента микроциркуляции (табл. 2).

Таблица 2

Динамика инструментальных показателей у пациентов с келоидными рубцами

Показатели	1-я группа (n=42)		2-я группа (n=33)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Влажность, у.е.	21,3 (18,6; 24,2)	22,3 (19,8; 25,3)	19,4 (17,6; 21,8)	21,1 (18,3; 22,5)
Микрорельеф, у.е.	28,1 (26,7; 31,3)	24,4 (21,2; 25,8)*	29,6 (26,3; 33,4)	20,3 (17,6; 23,6)*#
Чувствительность, у.е.	27,5 (24,3; 30,8)	19,8 (17,6; 22,0)*	22,1 (21,8; 26,1)	19,2 (17,1; 22,0)*#
Толщина рубца, см	0,52 (0,35; 0,67)	0,43 (0,29; 0,56)*	0,67 (0,47; 0,82)	0,48 (0,29; 0,61)*#
M, перф. ед.	17,1 (16,2; 17,9)	16,3 (15,4; 17,2)*	16,5 (17,4; 19,6)	15,2 (13,4; 15,0)*
δ, перф. ед.	5,67 (5,13; 5,95)	4,55 (3,91; 5,52)*	5,11 (4,53; 5,85)	4,86 (4,61; 5,11)*#
Kv, %	29,1	37,4	27,1	34,2

* статистически достоверные различия между показателями до и после лечения с вероятностью нулевой гипотезы $p < 0,05$; # – межгрупповые различия статистически значимы при $p < 0,05$

У пациентов 2-й группы при исходно более выраженной толщине и твердости, сниженной чувствительности и васкуляризации зарегистрирована аналогичная для 1-й группы тенденция к повышению влажности, более выраженное сглаживание рельефа рубца и менее выраженное снижение его чувствительности. Толщина рубцовой ткани уменьшалась на 28%. Снижалась степень общей перфузии тканей рубца преимущественно за счет уменьшения постоянного компонента и, в меньшей степени, переменного компонента микроциркуляции.

При сравнительном анализе динамики функциональных показателей обеих групп выявили более выраженное уменьшение толщины, твердости и рельефа зрелых рубцов при менее выраженных сдви-

гах их васкуляризации. Межгрупповые различия динамики данных показателей были достоверны.

В 1-й группе пациенты отмечали более высокие темпы купирования основных симптомов, относительно большую степень разрешения визуальных и сенсорных проявлений. Больные 2-й группы выражали удовлетворенность результатами лечения и регресс субъективных признаков только к окончанию его курса.

При корреляционном анализе обнаружили у лиц 1-й группы значимую прямую корреляционную зависимость от лазерного ангиофототермолиза снижения суммы клинических признаков рубцов ($r=0,75$), показателей чувствительности ($r=0,62$) тканей рубца и обратную зависимость – от степени васкуляризации ($r=0,75$).

У пациентов со зрелыми келоидными рубцами выявлена прямая корреляционная зависимость от комбинации лазерного ангиофототермолиза и фототермолиза снижения суммы клинических признаков рубцов ($r=0,71$), показателей толщины и твердости ($r=0,68$) тканей рубца, обратная корреляционная зависимость – от снижения показателей васкуляризации ($r=-0,51$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно результатам анализа, под действием исследованных методов ВИЛТ отмечается улучшение клинических признаков келоидных рубцов. Под действием лазерного излучения в режиме селективного ангиофототермолиза улучшались показатели эластичности и васкуляризации рубцов преимущественно за счет переменного компонента микроциркуляции, что в сочетании с выраженным снижением чувствительности свидетельствует о преобладающем ангиодеструктивном эффекте его лечебного действия. Напротив, комбинация ангиофототермолиза и фракционного аблятивного фототермолиза вызывала выраженное уменьшение толщины и твердости рубцов при менее выраженных изменениях их чувствительности и васкуляризации.

Таким образом, у пациентов с формирующимися келоидными рубцами ангиофототермолиз обладает выраженным ангиодеструктивным действием, а у пациентов со зрелыми келоидными рубцами комбинация лазерного ангиофототермолиза и фракционного аблятивного фототермолиза – выраженным дефибрирующим лечебным эффектом. Исследованные методы ВИЛТ существенно корректировали структуру коллагена и показатели васкуляризации патологических рубцов кожи, значимо изменяя их архитектонику и клинические признаки. При этом выраженный фибро- и ангиодеструктивный эффекты у пациентов со зрелыми келоидными рубцами являются результатом потенцирования действия различных методов высокоинтенсивного лазерного излучения.

Нами выделены и обоснованы лечебные эффекты методов лазерной коррекции рубцов кожи, вызывающие значимую коррекцию структуры и метаболизма коллагена патологических рубцов и сосудов микроциркуляторного русла.

Различные механизмы лечебного действия лазерного излучения высокой интенсивности определяют разную тактику использования ВИЛТ для коррекции келоидных рубцов, включающую последо-

вательное применение различных методик. Методы ВИЛТ являются альтернативой хирургическим методам коррекции патологических рубцов и могут быть эффективно использованы в программах их комплексной коррекции на разных стадиях формирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Таганов А.В. и др. Анализ методов лечения келоидных рубцов. Клиническая дермат. и венер. 2017; 16 (3): 97-102. [Taganov A.V. et al. Analysis of methods of treatment of keloid scars. Clinical dermatology and venerology. 2017; 16 (3): 97-102 (In Russ)].
2. Behrangi E., Goodarzi A., Masoumeh Roohaninasab, et al. A review of scar treatment related to acne and burn. JCR. 2020; 7 (4): 714-722. doi:10.31838/jcr.07.04.133.
3. Limmer E.E., Glass D.A. 2nd. A review of current keloid management: mainstay monotherapies and emerging approaches. Dermatol. Ther. (Heidelb). 2020; 10 (5): 931-948. doi: 10.1007/s13555-020-00427-2.
4. Betarbet U., Blalock T.W. Keloids: a review of etiology, prevention, and treatment. J. Clin. Aesthet. Dermatol. 2020; 13 (2): 33-43. PMID: 32308783
5. Галлямова Ю.А., Махакова Ю.Б., Сайтбурханов Р.Р. и др. Келоидные рубцы. Клинические рекомендации РОДVK, 2020. [Gallyamova Y.A., Makhakova Y.B., Saitburkhanov R.R. et al. Keloid scars. Clinical recommendations of RODVK, 2020 (In Russ)].
6. Rippa A.L., Kalabusheva E.P., Vorotelyak E.A. Regeneration of dermis: scarring and cells involved. Cells. 2019; 8 (6): 607. doi: 10.3390/cells8060607
7. Гуллер А.Е., Шехтер А.Б. Клинический тип и гистологическая структура кожных рубцов как прогностические факторы исхода лечения. Анн. пласт., реконстр. и эстет. хирургии. М., 2007: 19-31. [Guller A.E., Shehter A.B. Clinical type and histological structure of skin scars as prognostic factors of treatment outcome. Ann. plast., reconstr. and aesth. surgery. М., 2007: 19-31 (In Russ)].
8. Филиппова О.В., Афоничев К.А., Красногорский И.Н. и др. Клинико-морфологические особенности сосудистого русла гипертрофической рубцовой ткани в разные сроки ее формирования. Ортоп., травмат. и восст. хир. дет. возр. 2017; 5 (3): 25-35 [Filippova O.V., Afonichev K.A., Krasnogorsky I.N., et al. Clinical and morphological features of the vascular bed of hypertrophic scar tissue at different times of its formation. Ortop., Traumat. and Rest. Hir. Children Age. 2017; 5 (3): 25-35 (In Russ)].
9. Ojeh N., Bharatha A., Gaur U., Forde A.L. Keloids: Current and emerging therapies. Scars Burn Heal. 2020; 10; 6: 2059513120940499. doi: 10.1177/2059513120940499.
10. Alster T.S., Williams C.M. Treatment of keloid sternotomy scars with 585 nm flashlamp-pumped pulsed-dye laser. Lancet. 1995; 345(8959): 1198-200. doi: 10.1016/s0140-6736(95)91989-9
11. Cervelli V., Gentile P., Spallone D., et al. Ultrapulsed fractional CO2 laser for the treatment of post-traumatic and pathological scars. J. Drugs Dermatol. 2010; 9 (11): 1328-31. PMID: 21061753
12. Gauglitz G.G., Korting H.C., Pavicic T., et al. Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies. Mol. Med. 2011; 17 (1-2): 113-25. doi: 10.2119/molmed.2009.00153.
13. de las Alas J.M., Siripunvarapon A.H., Dofitas B.L. Pulsed dye laser for the treatment of keloid and hypertrophic scars: a systematic review. Expert Rev. Med. Devices. 2012; 9 (6): 641-50. doi: 10.1586/erd.12.56.
14. Choi J.E., Oh G.N., Kim J.Y., et al. Ablative fractional laser treatment for hypertrophic scars: comparison between Er:YAG and CO2 fractional lasers. J. Dermatolog Treat. 2014; 25 (4): 299-303. doi: 10.3109/09546634.2013.782090.
15. Azzam O.A., Bassiouny D.A., El-Hawary M.S., et al. Treatment of hypertrophic scars and keloids by fractional carbon dioxide laser: a clinical, histological, and immunohistochemical study. Lasers Med. Sci. 2016; 31 (1): 9-18. doi: 10.1007/s10103-015-1824-4.
16. Al-Mohamady Ael-S., Ibrahim S.M., Muhammad M.M. Pulsed dye laser versus long-pulsed Nd:YAG laser in the treatment of hypertrophic scars and keloid: A comparative randomized split-scar trial. J. Cosmet. Laser Ther. 2016; 18 (4): 208-12. doi: 10.3109/14764172.2015.1114648.
17. Gauglitz G.G., Pötschke J., Clementoni M.T. Laser und Narben [Therapy of scars with lasers]. Hautarzt. 2018; 69 (1): 17-26. doi: 10.1007/s00105-017-4072-7.
18. Ouyang H.W., Li G.F., Lei Y., et al. Comparison of the effectiveness of pulsed dye laser vs pulsed dye laser combined with ultrapulse fractional CO2 laser in the treatment of immature red hypertrophic scars. J. Cosmet. Dermatol. 2018; 17 (1): 54-60. doi: 10.1111/jocd.12487.

19. *Tan A., Glass D.A.* 2nd. Patient-reported outcomes for keloids: a systematic review. *G. Ital. Dermatol. Venereol.* 2019; 154 (2): 148-165. doi: 10.23736/S0392-0488.18.06089-3.

20. *Астахова М. и др.* Оценка влияния высокоинтенсивного лазера разной длины на некоторые регуляторные популяции нормотрофического рубца кожи. *Вест. Урал. Мед. Академ. Наук.* 2020; 17 (1): 72-79. [Astakhova M. et al. Assessment of the effect of high-intensity laser of different lengths on some regulatory populations of normotrophic skin scar. *West. Ural. H. academ. science.* 2020; 17 (1): 72-79 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 01.02.2021

Рецензент: Н.Н. Климко

ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВ – АДГЕЗИНОВ *MUCOR LUSITANICUS* И *ASPERGILLUS CLAVATUS* В СРАВНЕНИИ С АДГЕЗИНАМИ НЕКОТОРЫХ МИКРОМИЦЕТОВ И БАКТЕРИЙ

Рябинин И.А. (м.н.с., ассистент кафедры), Ковыршин С.В. (студент), Бузмакова А.Л. (студент), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, кафедра медицинской микробиологии, медико-профилактический факультет, лечебный факультет), Санкт-Петербург, Россия

В сообщении представлены результаты реконструкции третичной структуры и физико-химических свойств адгезинов *Mucor lusitanicus* и *Aspergillus clavatus* в сравнении с адгезивными белками других микромицетов и бактерий – *Pichia kudryavtsevii*, *Trichophyton benhamiae*, *Coccidioides immitis*, *Turicella otitidis* и *Klebsiella pneumoniae*. Для определения структурных особенностей глобулы адгезина *M. lusitanicus* применен оригинальный прием пофрагментной реконструкции. Кроме того, в первичной последовательности этого белка выявлены повторяющиеся аминокислотные мотивы *Val-Tre-Leu-Pro* и *Tre-Ile-Tre-Leu-Pro*. Для всех исследованных адгезинов расчётным путем предсказаны потенциальные антигенные эпитопы в форме эйкосапептидов. Обсуждена роль микробных адгезинов как перспективных мишеней для создания тест-систем и протоколов с целью совершенствования лабораторной диагностики инфекций.

Ключевые слова: адгезины, аспергиллы, бактерии, мукоромицеты, структурная протеомика

FEATURES OF *MUCOR LUSITANICUS* AND *ASPERGILLUS CLAVATUS* ADHESIVE PROTEINS IN COMPARISON WITH ADHESINS OF SOME MICROMYCETES AND BACTERIA

¹Ryabinin I.A. (junior researcher, assistant of the department), ²Kovyrshyn S.V. (student), ³Buzmakova A.L. (student), ¹Vasilyeva N.V. (director of the Institute, head of the department)

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

The results of the reconstruction of the tertiary structure and physicochemical properties of *Mucor lusitanicus* and *Aspergillus clavatus* adhesins in comparison with the adhesive proteins of other micromycetes and bacteria including *Pichia*

kudryavtsevii, *Trichophyton benhamiae*, *Coccidioides immitis*, *Turicella otitidis* and *Klebsiella pneumoniae* are presented in the report. For determination of structural features of the *M. lusitanicus* adhesin globule, an original method of fragmentary reconstruction was used. In addition, the repetitive amino acid motifs «Val-Tre-Leu-Pro» and «Tre-Ile-Tre-Leu-Pro» were identified in the primary sequence of this protein. Potential antigenic epitopes in the form of eicosapeptides were predicted by calculation for all of studied adhesins. The role of microbial adhesins as promising targets for creating test-systems and protocols in order to improve laboratory diagnosis of infections have been discussed.

Key words: adhesins, aspergilli, bacteria, mucoromycetes, structural proteomics

ВВЕДЕНИЕ

Ключом к разработке новых терапевтических средств, а также поиску диагностических биомаркеров для быстрого обнаружения возбудителей при мукормикозах является понимание молекулярного патогенеза этого круга патологий, факторов вирулентности этиологических агентов. В наибольшей степени в качестве таких субстанций известны гидролитические ферменты [1, 2], новые характеристики которых нами приведены ранее [3, 4]. Малоизвестными остаются механизмы адгезии мукоромицетов на естественные покровы организма человека, а также на поверхности клеток и внеклеточного матрикса, появляющиеся в области дефектов (механических или эрозийных). Среди биополимеров, опосредующих этот процесс, безусловно, наибольшей специфичностью обладают белки. В составе протеомов медицински значимых мукоромицетов адгезины пока слабо изучены. В данной работе проведено исследование одного из немногих идентифицированных представителей белков, выявленного у *Mucor lusitanicus* Bruderl, в сравнении с адгезивными белками других микроорганизмов. Среди белков сравнения более подробно изучали также адгезин *Aspergillus clavatus* Desm. в связи с двумя фактами. Аспергиллы как возбудители инвазивных микозов поражают в основном те же локализации, что и мукоромицеты, поэтому представляет интерес сопоставление их молекулярной стратегии «агрессии» в отношении тканей человека. В патогенезе инвазивного аспергиллеза наиболее полное представление сформировано в отношении факторов вирулентности *A. fumigatus* [5, 6], в то же время для многочисленных видов обширной группы *Aspergillus non-fumigatus* данные еще только накапливают [7, 8].

Цель работы – демонстрация структурного разнообразия адгезивных белков избранных возбудителей инфекций, микотических и бактериальных, в сравнительном аспекте с использованием инструментов биоинформатики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали первичные последовательности адгезивных белков из протеомов *Mucor lusitanicus*, *Corynebacterium (Turicella) otitidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pichia kudryavtsevii*, *Aspergillus clavatus*, *Trichophyton benhamiae* и *Coccidioides immitis*. Выбор таких видов обоснован, прежде всего, клинической актуальностью: *M. lusitanicus* (ранее – *M. circinelloides* f. *lusitanicus*) выделяли в случаях мукормикоза, также он является представителем основных родов условно-патогенных мукоромицетов, для которого идентифицирован адгезивный белок; *C. (T.) otitidis* – сравнительно малоизученный возбудитель инфекций ЛОР-органов; *K. pneumoniae* – хорошо известный этиологический агент воздушно-капельных и гнойно-септических инфекций, в том числе госпитальных (входит в группу «ESKAPE»); *P. kudryavtsevii* (ранее – *Candida krusei*) – дрожжевой гриб из группы возбудителей кандидоза с первичной устойчивостью к флуконазолу; *A. clavatus* – один из возбудителей инвазивного аспергиллеза; *T. benhamiae* вызывает зоонозную трихофитию, заражение происходит при контакте с мелкими млекопитающими (морские свинки и др.); *C. immitis* – особо опасный агент первичных системных микозов, его считают наиболее патогенным грибом для человека.

Поиск и выкопировку последовательностей провели с помощью ресурса NCBI, использовали последовательности №№ EAW13888.1; DAA74232.1; AAM69276.1; WP_046643973.1; KAF1804186.1; STR30521.1 и OUT21735.1. Для их обработки применяли редакторы COBALT (выравнивание), BlastTreeView (построение дендрограммы), ProteinCalculator v. 3.4 (анализ физико-химических свойств), Swiss-Model (реконструкция вторичной и третичной структуры) [9, 10], SVMTrIP (прогнозирование антигенных эпитопов) [11]. Предпечатную обработку изображений выполнили с помощью XnView и Paint.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Микробные адгезины, включенные в работу, обладают контрастно различающимися первичными структурами, как это видно из дендрограммы на рисунке 1.

По итогам реконструкции, исследуемые адгезивные белки можно условно разделить на 2 группы: адгезины микробиоты (кроме *P. kudryavtsevii*), для которых удается установить только структуру небольшой части молекулы (Рис. 2, верхняя часть); напротив, для адгезинов бактерий и *P. kudryavtsevii* с первого тура анализа воспроизвели строение большей части молекулы (Рис. 2, нижняя часть). Примечательно, что у адгезинов *P. kudryavtsevii*, *K. pneumoniae* и *C. otitidis* на значительной протяженности, как видно из диаграмм на рисунке, молекула состоит из β-складчатых структур. Адгезин *P. kudryavtsevii*

приближается к глобулярному, а аналогичные белки *K. pneumoniae* и *C. otitidis* – фибриллярного типа с характерными «тоннелями».

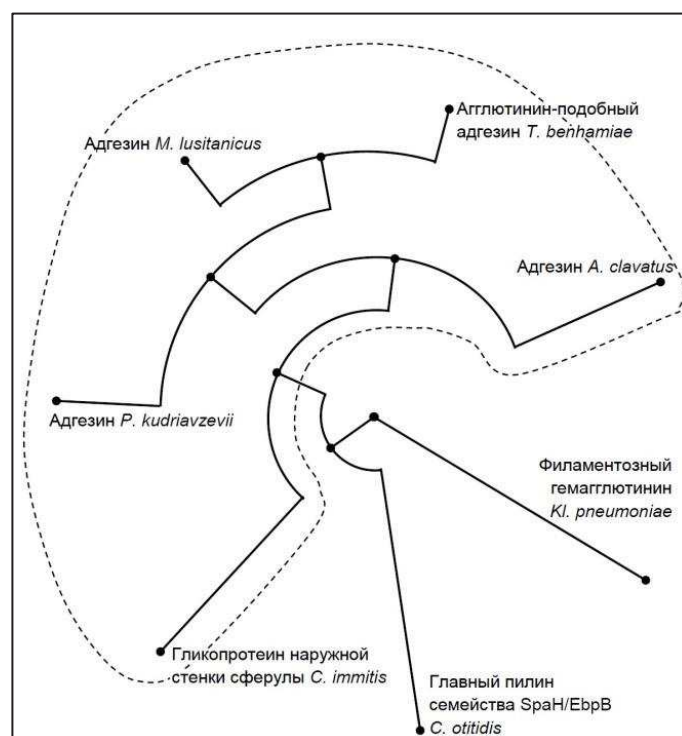


Рис. 1. Дендрограмма кластеризации первичных последовательностей микробных адгезинов (циркулярного типа, алгоритм построения «COBALT Tree»). Пунктиром объединена часть, включающая адгезины микробиоты.

У адгезина-гемолизина *K. pneumoniae* полость молекулы единая, образована трехгранным в сечении расположением β-складок, описывающих спираль; тогда как у белка фимбрий (адгезина) *C. otitidis* «полость» состоит как бы из трех обособленных каналов, не полностью подходящих друг к другу входными и выходными апертурами. В них β-складки ориентированы в основном вдоль длинной оси каналов и скошены под углом.

Адгезин *M. lusitanicus* за один тур работы редактора поддается лишь частичной реконструкции, охватывающей малый фрагмент последовательности, для него провели подряд 8 туров анализа, исключая из «запроса» ту часть последовательности, которую удалось воспроизвести на предыдущем этапе (туре). Адгезин *M. lusitanicus* включает 317 аминокислот, наибольшего содержания достигают остатки треонина (87), лейцина (41), пролина (40), валина (35), изолейцина (24) и серина (20). В первичной структуре отсутствуют гистидин, тирозин, цистеин и селеноцистеин. Содержание других остатков варьирует от 17 (аланин) до 1 (триптофан). Молекулярная масса белка $M_r=32856,957$ ($C_{1484}N_{347}O_{478}S_1H_{2473}$), ожидаемая изоэлектрическая точка $pI = 3,94$; при $pH=7,0$ молекула предположительно имеет заряд $-12,1$.

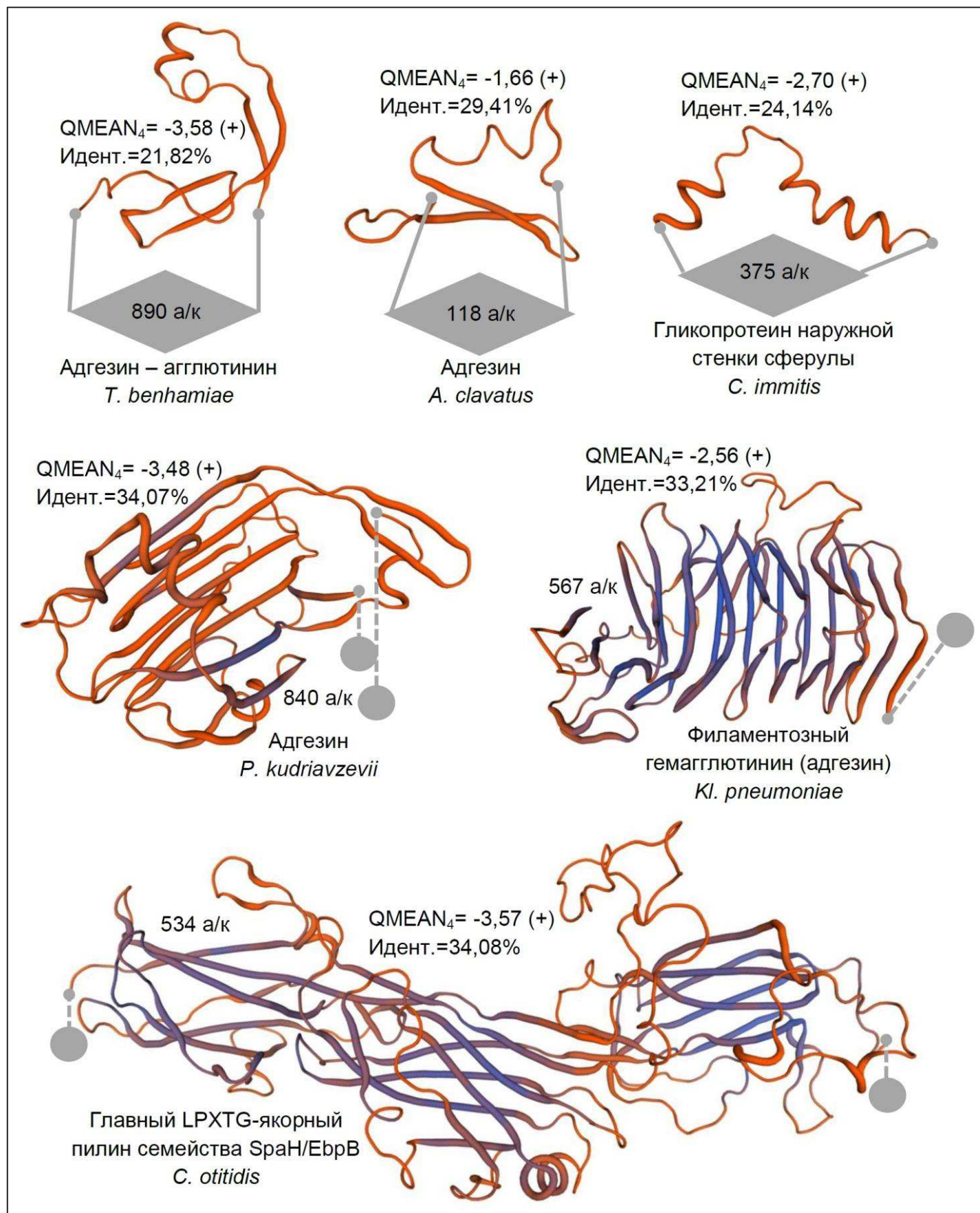


Рис. 2. Результаты структурной реконструкции микробных адгезинов. Серые геометрические элементы – не поддающаяся воссозданию часть структуры. Указано значение показателя достоверности реконструкции QMEAN₄ и идентичности анализируемой последовательности с последовательностью кристаллографического шаблона («идент.»). «а/к» - количество аминокислотных остатков в цепи.

Элементы вторичной и третичной структуры этого адгезина с разметкой очереди их расположения и фрагментов, не поддающихся аннотированию, показаны на рисунке 3 и в таблице 1 (верхняя часть).

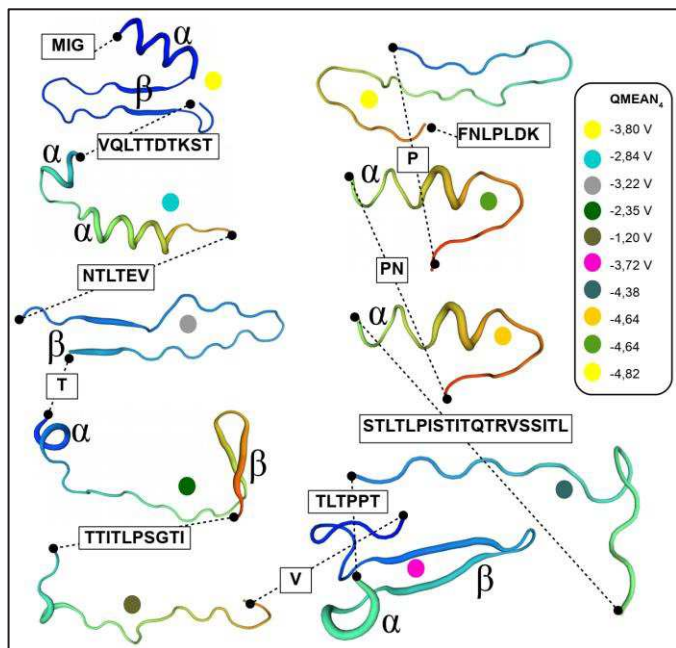


Рис. 3. Элементы вторичной и третичной структуры адгезина *M. lusitanicus*. Соединительные линии показывают очередность следования элементов в аминокислотной цепи, записи в коде FASTA в прямоугольниках – части цепи, не поддающиеся реконструкции. Для каждого фрагмента указана величина QMEAN₄ (на цветовой выноске); значения, отмеченные знаком «V», указывают на наиболее достоверные результаты. «α» и «β» – одноименные элементы вторичной структуры.

Воспроизведение структуры удалось для большей части последовательности. По показателю качества реконструкции QMEAN₄ (Рис. 3) элементы N-концевой части молекулы воссозданы наиболее точно, а С-концевой, как видно из фактических значений, имеют существенные различия с использованными кристаллографическими моделями. Некоторым недостатком данного метода реконструкции является то обстоятельство, что получаемые структуризированные белковые фрагменты невозможно свести в единую глобулу, т.е. понять их взаимное расположение друг относительно друга. Такие данные в силу уникальности исследуемого адгезина возможны только после прохождения полноценного рентгеноструктурного анализа. Многие элементы молекулы не относятся к консервативным стабильным элементам вторичной структуры, т.е. их конформация может легко меняться в зависимости от строения близкорасположенного фрагмента в молекуле или другого полипептида в акте межбелковых взаимодействий.

Таблица 1

Аннотация-«разметка» первичной структуры адгезина *Mucor lusitanicus*

Участки последовательности, для которых воссоздана вторичная и третичная структура; участки, для которых реконструкция невозможна, выделены (XXX)
MIGTSTITDLEVTTLTETDVELATATEFVTVTSTFIDVQLTDTKSTTAT VTNTITDVELFTATVNNTLVINNTLVEVQLLVTDISTQLVTLPPSLVTL PPNTVTESITLAPNVITLPASTITQLQVSSITLPATITLPSGTITLPASIV TLPRETVTLPANTVTLVPSTVTLPIPLPANTVTFPITLPAETVTLTPPTV TLPVTLASASTVTLVPSTVTLPISTITQTRVSSITLPGTTITLPSGTVTLPP SIVTLPPNTVTVTPNPVTLPPNTITLPAGTITVTQAPLPAITVTAPPATIT LPPQPWFNPLDK
Повторяющиеся аминокислотные мотивы «VTLP» и «TITLP»
MIGTSTITDLEVTTLTETDVELATATEFVTVTSTFIDVQLTDTKSTTAT VTNTITDVELFTATVNNTLVINNTLVEVQLLVTDISTQLVTLPPSLVTL PPNTVTESITLAPNVITLPASTITQLQVSSITLPATITLPSGTITLPASIV TLPRETVTLPANTVTLVPSTVTLPIPLPANTVTFPITLPAETVTLTPPTV TLPVTLASASTVTLVPSTVTLPISTITQTRVSSITLPGTTITLPSGTVTLPP SIVTLPPNTVTVTPNPVTLPPNTITLPAAGTITVTQAPLPAITVTAPPATIT LPPQPWFNPLDK

Последовательность адгезивного белка *M. lusitanicus* интересна также тем, что в ней встречаются своеобразные повторяющиеся мотивы аминокислот (табл. 1, нижняя часть): Val-Tre-Leu-Pro (всего 10) и Tre-Ile-Tre-Leu-Pro (всего 5). По-видимому, такие мотивы указывают на способность этого адгезина связывать некий субстрат, включающий повторяющиеся фрагменты.

Таковыми элементами на клетке хозяина могут быть гетерополисахариды, гликолипиды, поверхностный белок, состоящий из нескольких сходных субъединиц, или группа идентичных трансмембранных белков с близким пространственным расположением.

В результате прогностического анализа состава антигенных свойств адгезинов получены группы эйкосапептидов, количество которых оказалось в основном пропорционально длинам исходных аминокислотных последовательностей исследуемых белков (табл. 2).

Таблица 2

Антигенные эпитопы в структуре исследуемых микробных адгезинов

Вид	Остатки в последовательности адгезина	Последовательности эпитопов - эйкосапептидов (FASTA)	Индикатор достоверности существования эпитопа (по SVMTrIP)
<i>Mucor lusitanicus</i>	79-98	QLLVTDISTQLVTLPPSLV*	1.000
	112-131	APNVITLPASTITQLQVSSI*	0.865
	222-241	LPISTITQTRVSSITLPGTT	0.843
	147-166	LPASIVTLPRETVTLPANTV	0.581
<i>Coccidioides immitis</i>	314-333	KETKNGYHYARAHDKAVSS*	1.000
	50-69	YDEYGYKMRKRKATSHKEHS	0.811
<i>Pichia</i>	217-236	SSLVYQLDGATAGMQCTKV*	1.000

<i>kudriavzevii</i>	121-140	AETTGIEYFQVINVDSEAMI*	0.878
	1725-1744	TNAIVVETPDVTCVPRTSID	0.640
	2083-2102	GLEITHYSSNRISVDDGEIV	0.577
	1774-1793	GIVVIFSEVIVETPAASCGT	0.553
	707-726	SEIIVEIPSDPVSSWTTTTS	0.466
	1610-1629	RVYNATLVVVETPAASCAQL	0.465
	2222-2241	KYFDALNRIVEVEAQIESLL	0.464
	829-848	HHTVTVTDDCLSTTISSTVT	0.455
	1116-1135	HHTVTVTDDCLSTTISSTVT	0.455
<i>Aspergillus clavatus</i>	86-105	CCTGCAATCCCCTCTCCGGC*	1.000
	283-302	CTCTGCGACAACCCTACGG	0.977
<i>Trichophyton benhamiae</i>	362-381	EPDVEIPSNEVETRLGKLI*	1.000
	87-106	IQQVQADLSTNDGLRAARAL*	0.996
	487-506	VTQVAKIENTRSGFLPNTGG*	0.993
	217-236	EQLSKYVVFDDLDEEKLELT	0.792
	31-50	ALVPQAVAQEANASTIDVDR	0.609
	451-470	CLVEVEAPQGYQLLSTPVEV	0.604
	238-257	EQREGITASLTAGDVELEKG	0.602
	109-128	ATAEDDPEGVSEQKITDENG	0.588
<i>Corynebacterium (Turicella) otitidis</i>	362-381	EPDVEIPSNEVETRLGKLI*	1.000
	87-106	IQQVQADLSTNDGLRAARAL*	0.996
	487-506	VTQVAKIENTRSGFLPNTGG*	0.993
	217-236	EQLSKYVVFDDLDEEKLELT	0.792
	31-50	ALVPQAVAQEANASTIDVDR	0.609
	451-470	CLVEVEAPQGYQLLSTPVEV	0.604
	238-257	EQREGITASLTAGDVELEKG	0.602
	109-128	ATAEDDPEGVSEQKITDENG	0.588
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	363-382	ASLLSNNQIAATAIGDFLNE*	1.000
	82-101	NNLTAGSASVILNEVTSKNA*	0.860
	537-556	NMTLTATKVVNGKSCGILG*	0.812
	278-297	KGSITGKGLLSQVSTVTGIT	0.555
	565-584	LTADKLVLNSSQKYVSDMGG	0.538
	33-52	ATVIDIEKPNAAAGVSHNLYR	0.511
	448-467	QSSSGRIEATNAITANSYWL	0.431
	175-194	GYAVLLADAIKINGKVQANN	0.412
232-251	DVSSLGGIEANSISMVGNNI	0.389	

Примечание: знаком «*» отмечены наиболее достоверные эпитопы.

Для адгезина *M. lusitanicus* выявили 4 таких эпитопа, 2 из которых формируются с высокой достоверностью. Эти эпитопы можно использовать для создания искусственного антигенного препарата (на синтетическом носителе – коллоидной гидроокиси алюминия, дендримере, фуллеренах и др.) с целью получения специфических антител. Моноклональные антитела к адгезину возбудителя мукормикоза для иммуногистохимического исследования позволят детально локализовать топографию адгезина на гифах возбудителя, уточнить, экспрессируется ли он

только на поверхности растущего апекса или рас-средоточен диффузно по таллому гриба в ткани, и/или частично диффундирует в межклеточное пространство и тканевые жидкости. В последнем случае такой белок можно будет рассматривать в качестве антигенного экспресс-маркера, вопрос о поиске которых остро стоит в отношении разработки средств диагностики мукормикозов.

Адгезин *A. clavatus* диаметрально отличается от изученного белка *M. lusitanicus* по физико-химическим свойствам. Это небольшой белок, состоящий всего из 118 аминокислот. Молекула выражается брутто-формулой $C_{559}N_{149}O_{172}S_{11}H_{883}$, которой соответствует среднеизотопная молекулярная масса $M_r=12787,1670$. При $pH=7,0$ белковая глобула имеет заряд 1,3; ожидаемая изоэлектрическая точка составила 7,52. В первичной структуре наибольшего содержания достигают остатки треонина (12), серина и цистеина (по 10), пролина и лейцина (по 9); содержание других остатков варьирует от 8 (аланин) до 1 (метионин). Триптофан и селеноцистеин отсутствуют. Примечательно, что сегменты последовательности у N- и C-конца уникальны и не поддаются структурной реконструкции, а срединный сегмент отличается пространственным сходством сразу с несколькими белками эукариот: нидогеном – компонентом базальной мембраны эпителия многоклеточных животных; эпителиальным фактором роста человека; Е-селектином человека, а также адгезинами некоторых простейших – *Plasmodium falciparum* и *Toxoplasma gondii*. Этот факт указывает, что данный адгезин *A. clavatus* потенциально связан с неким еще не установленным актом межбелкового взаимодействия с компонентами эпителиальных барьеров, который также имеет место в патогенезе других инфекционных заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Адгезия является ключевым начальным этапом во взаимодействии микроорганизма-хозяина и микроорганизма-колонизатора или возбудителя инфекционного заболевания. Адгезины относят к важным факторам вирулентности инфекционных агентов вне зависимости от их природы (бактерии, микромицеты, вирусы, простейшие, возможно, и многоклеточные паразиты). Поэтому эволюционные процессы на молекулярном уровне на этапах становления конкретной системы «паразит-хозяин» обязательно затрагивают генетические детерминанты адгезинов. В конкуренции за конкретных «хозяев» (между собой и резидентной микробиотой) возбудители инфекционных болезней выработали уникальные молекулярные стратегии прикрепления к их клеткам с использованием субстанций белковой, полисахаридной и липидной природы. С прикладной, медицинской точки зрения, сами адгезины и их генетические детерминанты следует рассматривать как перспективные биомаркеры, которые послужат разработке тест-систем для индикации, идентификации и внутриви-

догового типирования патогенных биологических агентов. В этой сфере наиболее «удачными» объектами являются белки, поскольку на данном этапе развития молекулярной биологии и биоинформатики для этих соединений разработаны наиболее подробные и многофункциональные подходы к исследованию и анализу. Полисахаридные адгезины (в составе капсул и микрокапсул) имеют более сложный аппарат кодирования, а методы типирования на их основе обладают определёнными ограничениями по дискриминационной силе. Так, *Salmonella Typhimurium* – единый серотип, но имеет множество молекулярных вариантов (в системе Multilocus sequence typing – MLST, например) [12], отдельные серотипы диареегенных эшерихий представлены штаммами, не идентичными по фактическому набору детерминант вирулентности и т.д. Что касается «липидных адгезинов», вероятно, такие молекулы участвуют в реализации патогенного потенциала некоторых микроорганизмов, с высоким содержанием липидов в клетках (особенно на поверхности) [13] – спирохет, микобактерий, малассезий и др. Но значение таких соединений в прикладном аспекте и возможность диагностического использования – вопросы, требующие более углублённых исследований.

Проведённое исследование показало различные структурные стратегии микроорганизмов разного систематического положения, реализуемые ими в формировании белковых адгезинов.

Сами адгезины (и микроорганизмы, продуцирующие их) можно обнаружить с помощью тест-систем на основе иммуноферментного анализа (ИФА), реакции иммунофлуоресценции или иммунохроматографии [14]. А сродство адгезинов к конкретному белку-лиганду клеток человека принципиально возможно определить методом типа конкурентного ИФА, только вместо пары «антиген-антитело» здесь на первом этапе будет присутствовать пара «лиганд-рецептор» с участием генноинженерного белка-«мишени» адгезина и самого адгезина из экстракта белков клеточной стенки.

Кроме того, для экспресс-диагностики представляют интерес структурные гены, кодирующие

адгезины, как потенциальные «мишени» в создании диагностических систем на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени.

Для внутривидового типирования по генам адгезинов, помимо технологии таргетного ДНК-секвенирования, перспективной представляется сравнительно новая «тандемная» методика, включающая полимеразную ценную реакцию и MALDI-TOF-масс-спектрометрию (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry). Она включает модифицированную ПЦР с T7-полимеразой, где ДНК-ампликон превращается в последовательность РНК, затем претерпевает расщепление нуклеотид-специфичной РНКазой, а продукты расщепления (компомеры) анализируют в MALDI-TOF-MS. Такой подход ценен для выявления мононуклеотидных полиморфизмов (SNP), а по скорости превосходит традиционное ДНК-секвенирование по Ф. Сенджеру [15, 16].

Вышеупомянутые иммунологические и молекулярно-генетические методы ориентированы в основном на нужды диагностической микробиологии и молекулярной эпидемиологии, а в аспекте фундаментальных исследований для выявления адгезинов на поверхности клеток возможно использовать электронную микроскопию типа «ImmunoGold». Это модификация трансмиссионной электронной микроскопии, в которой клетки исследуемого объекта обрабатывают антителами, мечеными наночастицами золота [17]. Таким образом, места локализации адгезинов видны на электронограмме, как чёрные точки на фоне более бледно окрашенных клеток.

Создание диагностических тест-систем, нацеленных на поиск белковых адгезинов в образцах биоматериала, в дальнейшем позволит повысить эффективность раннего обнаружения актуальных возбудителей инфекций, в том числе – мукоромицетов, что, в свою очередь, сделает возможным на более раннем этапе начать специфическую этиотропную терапию и повысить шансы на выживание у пациентов с жизнеугрожающими инфекционными патологиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hassan M.I.A., Voigt K. Pathogenicity patterns of mucormycosis: epidemiology, interaction with immune cells and virulence factors. *Med. Mycol.* 2019; 57 (Suppl. 2): S245-S256. doi: 10.1093/mmy/myz011.
2. Challa S. Mucormycosis: Pathogenesis and Pathology. *Current Fungal Infection Reports.* 2019; 13: 11-20. doi: 10.1007/s12281-019-0337-1
3. Рябинин И.А., Васильева Н.В., Борзова Ю.В. Характеристика сериновой протеазы *Syncephalastrum racemosum* Cohn, 1886. *Проблемы медицинской микологии.* 2020; 22 (2): 50-55. [Ryabinin I.A., Vasilyeva N.V., Borzova Y.V. Characteristics of serine protease from *Syncephalastrum racemosum* Cohn, 1886. *Problems in Medical Mycology.* 2020; 22 (2): 50-55 (in Russ)]. doi: 10.24412/1999-6780-2020-2-50-55
4. Росейкина Т., Дорошева А., Рябинин И.А. Межбелковые взаимодействия протеазы *Rhizomucor miehei*. *Проблемы медицинской микологии.* 2020; 22 (3): 121. [Rosseykina T., Dorosheva A., Ryabinin I.A. Protein-protein interaction of *Rhizomucor miehei* protease. *Problems in Medical Mycology.* 2020; 22 (3): 121 (in Russ)].
5. Bultman K.M., Kowalski C.H., Cramer R.A. *Aspergillus fumigatus* virulence through the lens of transcription factors. *Medical Mycology.* 2017; 55 (1): 24-38. doi: 10.1093/mmy/myw120
6. Chotirmall S.H., Mirkovic B., Lavelle G.M., et al. Immuno-evasive *Aspergillus* virulence factors. *Mycopathologia.*

2014; 178, 363-370. doi: 10.1007/s11046-014-9768-y

7. Raksha L., Singh G, Urhekar A.D. Virulence factors detection in *Aspergillus* isolates from clinical and environmental samples. J. Clin. Diagn. Res. 2017; 11 (7): DC13-DC18. doi: 10.7860/JCDR/2017/24055.10211.

8. Ghorbel D., Hadrich I., Neji S., et al. Detection of virulence factors and antifungal susceptibility of human and avian *Aspergillus flavus* isolates. J. Mycol. Med. 2019; 29 (4): 292-302. doi: 10.1016/j.mycmed.2019.100900.

9. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., et al. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. Nucleic Acids Res. 2018; 46 (W1): W296-W303.

10. Bienert S., Waterhouse A., de Beer T.A.P., et al. The SWISS-MODEL Repository – new features and functionality. Nucleic Acids Res. 2017; 45: D313-D319. doi.org/10.1093/nar/gkw1132

11. Yao B., Zhang L., Liang S., Zhang C. SVMTriP: A method to predict antigenic epitopes using support vector machine to integrate tri-peptide similarity and propensity. PLoS ONE. 2012; 7 (9): e45152. doi.org/10.1371/journal.pone.0045152

12. Ranjbar R., Elhaghi P., Shokoozhadeh L. Multilocus sequence typing of the clinical isolates of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in Tehran Hospitals. Iran. J. Med. Sci. 2017; 42 (5): 443-448. PMID: 29234176

13. Kubicek-Sutherland J.Z., Vu D.M., Mendez H.M., et al. Detection of lipid and amphiphilic biomarkers for disease diagnostics. Biosensors (Basel). 2017; 7 (3): 25. doi.org/10.3390/bios7030025

14. Wagner C.L., Riess T., Linke D., et al. Use of *Bartonella* adhesin A (BadA) immunoblotting in the serodiagnosis of *Bartonella henselae* infections. Int. J. Med. Microbiol. 2008; 298 (7-8): 579-590. doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.01.013

15. Nordhoff E., Luebbert C., Thiele G., et al. Rapid determination of short DNA sequences by the use of MALDI-MS. Nucleic Acids Res. 2000; 28 (20): e86. doi.org/10.1093/nar/28.20.e86

16. Mauger F., Bauer K., Calloway C.D., et al. DNA sequencing by MALDI-TOF MS using alkali cleavage of RNA/DNA chimeras. Nucleic Acids Res. 2007; 35 (8): e62. doi.org/10.1093/nar/gkm056

17. Richards R.G., Stiffanic M., Owen G.R., et al. Immunogold labelling of fibroblast focal adhesion sites visualized in fixed material using scanning electron microscopy, and living, using internal reflection microscopy. Cell. Biol. Int. 2001; 25 (12): 1237-1249. /doi.org/10.1006/cbir.2001.0807

Поступила в редакцию журнала 25.02.2021

Рецензент: Т.С. Богомолова

ОБРАЗОВАНИЕ ГИГАНТСКИХ КЛЕТОК ШТАММАМИ ГРИБОВ РОДА *LICHTHEIMIA*, ВЫДЕЛЕННЫМИ ОТ БОЛЬНЫХ МУКОРМИКОЗОМ

Ковыршин С.В. (студент), Богомолова Т.С. (зав. лаб.)*, Чилина Г.А. (зав. лаб.)

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

Изучена способность формировать гигантские клетки у 9 штаммов *Lichtheimia* spp. (*L. corymbifera*, *L. ramosa*, *L. ornata*). Установлено, что образование данных структур лучше всего наблюдать при выращивании культур грибов на картофельно-глюкозном агаре и среде Сабуро. Максимального развития гигантские клетки достигают на 2-3-й неделях роста культуры.

Ключевые слова: гигантские клетки, *Lichtheimia*

GIANT CELLS FORMATION IN *LICHTHEIMIA* SPP. ISOLATES FROM PATIENTS WITH MUCORMYCOSIS

Kovyrshin S.V. (student), Bogomolova T.S. (head of the laboratory), Chilina G.A. (head of the laboratory)

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

The ability to form giant cells was studied in 9 strains of *Lichtheimia* spp. (*L. corymbifera*, *L. ramosa*, *L. ornata*). The formation of these structures was better observed for fungal cultures on potato-dextrose agar and Sabouraud glucose agar. Giant cells reached their maximal development after 2 or 3 weeks of growth.

Key words: giant cells, *Lichtheimia*

ВВЕДЕНИЕ

Грибы рода *Lichtheimia* – одни из основных возбудителей мукормикоза [1]. Точную видовую идентификацию мукоромицетов выполняют молекулярно-генетическими методами, однако предварительную идентификацию родов и видов возбудителей можно провести по морфологическим особенностям культур грибов, что доступно для клинических микробиологических лабораторий. Одним из отличия

тельных фенотипических признаков *Lichtheimia* spp. являются гигантские клетки (ГК) – сильно вздутые, ветвящиеся или неветвящиеся гифы, часто с каплевидными включениями, имеющие толстые клеточные стенки [2-3].

Известно, что разные виды рода *Lichtheimia* проявляют различную скорость роста на питательных средах, особенно при повышенных температурах [3, 4]. Эти особенности также важно учитывать при фенотипической идентификации культур *Lichtheimia* spp.

Цель работы – выявление и сравнение строения ГК у разных видов и штаммов грибов рода *Lichtheimia*, выделенных из биоматериалов больных мукормикозом, исследование образования гигантских клеток на разных питательных средах, изучение скорости роста культур *Lichtheimia* spp. при 45 °С.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучено 9 штаммов *Lichtheimia* spp., полученных из Российской коллекции патогенных грибов НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина: *L. corymbifera* (РКПГ F-1837; РКПГ F-1493; РКПГ F-2020; РКПГ F-1568; РКПГ F-1601), *L. ramosa* (РКПГ F-1456; РКПГ F-2007; РКПГ F-2019), *L. ornata* (РКПГ F-1507).

Все штаммы *Lichtheimia* spp. были выделены от пациентов с различными клиническими формами мукормикоза и идентифицированы до вида с помощью молекулярно-генетических методов.

Каждый штамм рода *Lichtheimia* был пересеян на картофельно-глюкозный агар (КГА), сусло-агар и агар Сабуро. Посевы инкубировали при t° 28 °С в течение 2-4 недель. Микроскопическое исследование колоний проводили 1 раз в неделю, отмечали наличие и особенности строения гигантских клеток (ГК). Выполняли фотодокументирование результатов исследования с помощью микроскопа Leica DM LB2 со встроенной камерой DFC320 (Leica, Германия).

Для изучения скорости роста каждый штамм был инкубирован при 45 °С в чашках Петри с агаризованной средой Сабуро в течение 3 суток с последующим измерением диаметра колоний.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Скорость роста культур при 45 °С.

После 72 ч культивирования на агаре Сабуро диаметры колоний составили: для *L. ornata* – 4 см, *L. ramosa* – 7 см, *L. corymbifera* – от 4 до 6 см в зависимости от штамма. Полученные размеры колоний соответствуют описанию видов, приведенному в атласе клинически значимых грибов G.S. de Hoog et al. [4]. Максимальной скоростью роста при 45 °С обладают штаммы вида *L. ramosa*.

* Контактное лицо: Богомолова Татьяна Сергеевна, e-mail: tatiyana.bogomolova@szgmu.ru

Образование гигантских клеток у исследуемых штаммов *Lichtheimia* spp.

В результате культивирования штаммов разных видов в течение трех недель и наблюдения за изменениями в их морфологическом строении с помощью микроскопического исследования удалось выявить для каких видов характерно наличие гигантских клеток и на каких средах они образуются.

Все штаммы *L. corymbifera* формировали разнообразные по форме ГК через 2 недели (Рис. 1). Были замечены образования как сферической, так и неправильной (разветвленной), а иногда даже расплывающейся во все стороны формы. Гигантские клетки проходили разные стадии созревания, были разнообразных размеров, иногда заполняющих всё поле зрения микроскопа. Наиболее активное образование ГК наблюдали на КГА и на среде Сабуро, и только через 3 недели единичные ГК были обнаружены на сусло-агаре (табл. 1-3). Через 2,5 недели с начала роста культур огромное количество образований заполнили полностью окружающую мицелий среду. Через 3 недели они присутствовали, но в гораздо меньших количествах.

Штамм *L. ornata* проявил наименьшую активность образования ГК. На протяжении 3 недель посредством микроскопии выявлено малое количество разветвленных клеток на КГА и среде Сабуро и не было обнаружено таковых на сусло-агаре (Рис.2 А, Б, табл. 1-3).

Штаммы *L. ramosa* показали самое большое разнообразие форм гигантских клеток. За исключением сусло-агара, испытанные питательные среды были благоприятными для образования ГК. Колонии, растущие на КГА, образовывали максимальное количество клеток шарообразной и разветвленной формы на 2 неделе роста, впоследствии их число уменьшилось (Рис. 3, табл. 1-3). На среде Сабуро наблюдали схожее с КГА количество гигантских клеток на всем протяжении культивирования. По сравнению с *L. corymbifera*, штаммы *L. ramosa* формировали ГК меньших размеров, в основном свободно расположенные, а не интеркалярные.

Таблица 1

Интенсивность образования гигантских клеток штаммами *Lichtheimia* spp. на агаризованной среде Сабуро

Штамм	Длительность культивирования			
	1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1837	+	+++	+++	+
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1493	+	+++	++	+
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-2020	+	++	++	+
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1568	+	+++	++	+
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1601	++	++	+++	+

<i>L. ornata</i> РКПГФ-1507	-	-	-	+
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-2007	++	+++	++	+
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-1456	+	+++	+++	+
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-2019	++	+++	++	+

Таблица 2

Интенсивность образования гигантских клеток штаммами *Lichtheimia* spp. на картофельно-глюкозном агаре

Штамм	Длительность культивирования			
	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1837	+	+++	++	+
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1493	++	++	+++	++
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-2020	++	++	++	+
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1568	+	+++	++	++
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1601	+	+++	+++	+
<i>L. ornata</i> РКПГФ-1507	-	-	+	+
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-2007	++	+++	++	+
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-1456	++	+++	+++	++
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-2019	++	++	+++	++

Таблица 3

Интенсивность образования гигантских клеток штаммами *Lichtheimia* spp. на сусло-агаре

Штамм	Длительность культивирования			
	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1837	+	+	+	-
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1493	+	+	+	-
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-2020	-	-	+	+
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1568	-	-	+	+
<i>L. corymbifera</i> РКПГФ-1601	+	++	+	+
<i>L. ornata</i> РКПГФ-1507	-	-	-	-
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-2007	+	+	+	+
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-1456	+	+	+	+
<i>L. ramosa</i> РКПГФ-2019	+	++	+	+

Примечание к табл. 1-3: + – единичные ГК, ++ – от 5 до 10 ГК, +++ – более 10 ГК в микропрепарате.

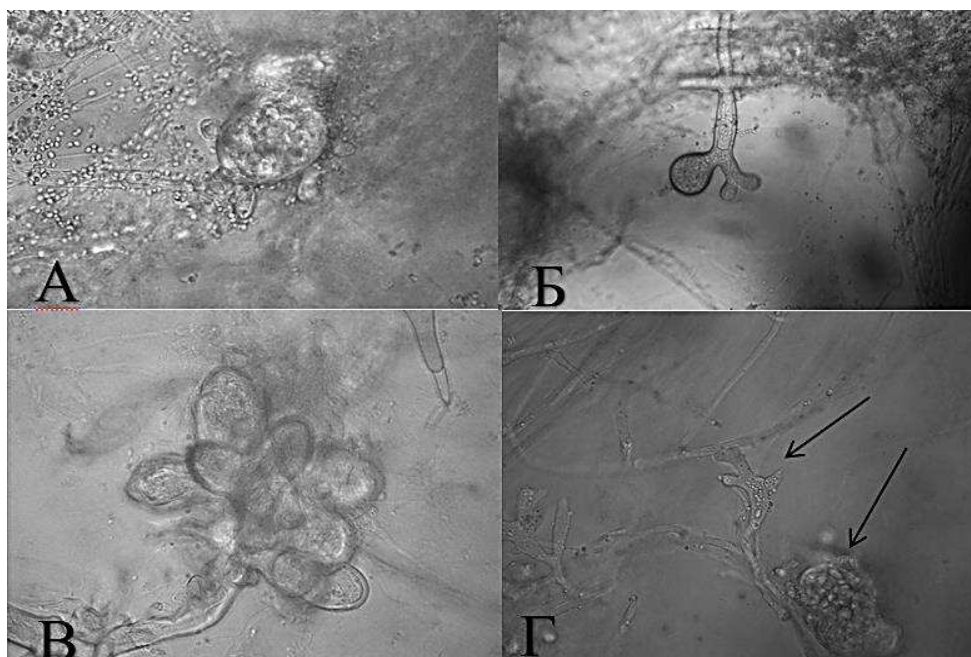


Рис.1. Гигантские клетки штаммов *L. corymbifera*. А – штамм РКПГ F-1837, КГА, 2 неделя роста, ув. x100; Б – штамм РКПГ F-1837, среда Сабуро, 3 неделя роста, ув. x100; В – штамм РКПГ F-1493, среда Сабуро, 2 неделя роста, ув. x400; Г – штамм РКПГ F-1837, среда Сабуро, 2 неделя роста, ув. x100.

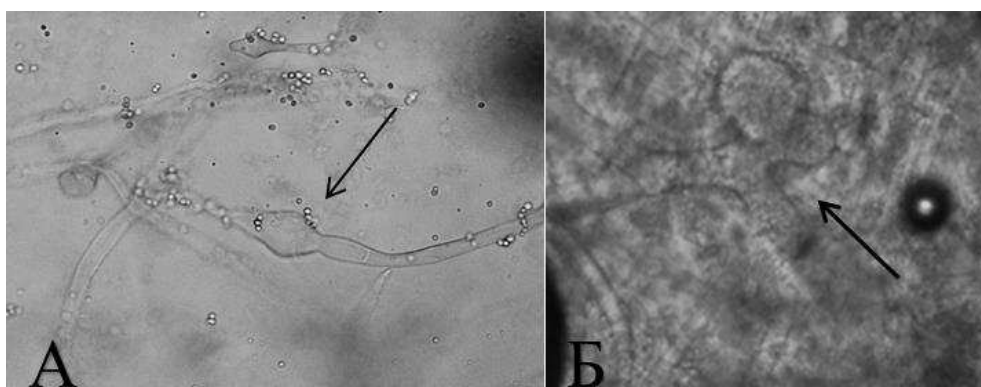


Рис. 2. Гигантские клетки *Lichtheimia ornata* РКПГ F-1507, КГА, 2 недели роста, ув. x400. А – начальная стадия формирования ГК; Б – разветвленная ГК с большим количеством капель масла.

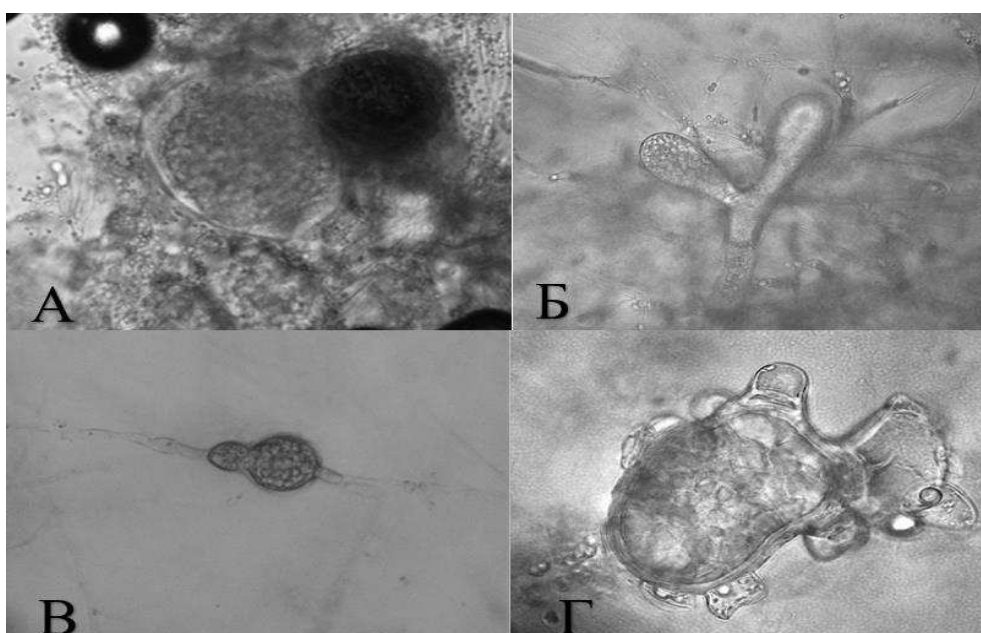


Рис. 3. Гигантские клетки штаммов *L. ramosa*. А – штамм РКПГ F-1456, КГА, 2 неделя роста, округлая форма, ув. x400; Б – штамм РКПГ F-1456, КГА, 2 неделя роста, разветвленная форма, ув. x100; В – штамм РКПГ F-2007, среда Сабуро, 3 неделя роста, ув. x400; Г – штамм РКПГ F-2007, КГА, 3 неделя роста, округлая форма с ослизнением, ув. x400.

ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование ГК является отличительным признаком мукоромицетов из рода *Lichtheimia* [2-4].

В литературе имеются сведения о различиях в интенсивности образования и формах ГК у разных видов рода *Lichtheimia* при выращивании на различных питательных средах [3-4]. В связи с этим нами было проведено исследование способности к образованию ГК у изолятов *Lichtheimia* spp., выделенных от пациентов в Санкт-Петербурге.

Из трех испытанных нами сред эффективными для изучения способности лихтеимий к образованию ГК оказались агар Сабуро и среда КГА, обеспечивающие активную продукцию ГК и максимальное разнообразие форм этих клеток. Сусло-агар является неподходящей средой для образования ГК у мукоромицетов.

В нашем исследовании наименьшую активность в продукции ГК проявил штамм *L. ornata*. По данным зарубежных исследователей [4], этот криптоический вид можно отличить от основного вида *L. corymbifera* по образованию крупных, сильно разветвленных ГК при выращивании на агаре с дрожжевым экстрактом, тогда как штаммы *L. corymbifera* не образуют ГК на этой среде. В связи с этим планируется продолжить исследование единственного имеющегося в РКПГ штамма *L. ornata* на среде с дрожжевым экстрактом.

Мы подтвердили, что оптимальным временем культивирования мукоромицетов для наблюдения ГК является срок 2-3 недели. Также полученные нами результаты изучения скорости роста различных видов *Lichtheimia* при температуре 45 °С совпали с указанными в научной литературе и подтвердили правильность идентификации культур.

При исследовании культур *Lichtheimia* spp. разного возраста стало возможным детальное изучение морфологии ГК и стадии их развития. Клетки могут быть как интеркалярными, так и свободно находящимися в среде. На молодых культурах заметны крупные вздутия мицелия, к которым стягиваются вакуоли с питательными веществами. Согласно данным Alastruey-Izquierdo A. и соавторов [3], затем ГК

начинают удваивать количество мембран, толщина которых варьируется от 3 до 14 мкм. На более поздних стадиях своего созревания ГК имеют внутри себя большое количество капель масла и других веществ, а также выходящие из внутренней части выросты, которые имеют в себе небольшое количество вакуолей. Далее возможно ослизнение ГК (Рис. 3 Г). По форме клетки варьируются от шарообразных с четким выделением описанных выше элементов до разветвленных образований, в том числе пальцевидной формы, не имеющих слизи и выростов, но содержащие в себе намного больший объем вакуолей.

Вероятно, гигантские клетки являются структурами, предназначенными для запасаания питательных веществ. Они имеют в своем строении вакуоли с питательными веществами, в том числе с каплями масла.

ВЫВОДЫ

Все изученные штаммы *Lichtheimia* spp. проявили способность к образованию ГК, при этом наибольшее разнообразие форм клеток получено на КГА. Наибольшую интенсивность образования ГК наблюдали на 2-3 неделях роста культур.

Штаммы *L. ramosa* формировали ГК быстрее, чем штаммы двух других видов. Изоляты *L. ramosa* и *L. corymbifera* проявили разнообразие в форме гигантских клеток: обнаружены как сферические, так и разветвленные формы, а у штаммов *L. ramosa* отмечали также ослизняющиеся ГК.

Изученный штамм *L. ornata* был наименее активен в образовании ГК, так как ни большого количества, ни разнообразия форм этих клеток не было выявлено.

Планируются дальнейшие исследования процессов формирования ГК у культур мукоромицетов с использованием большего количества штаммов и дополнительных питательных сред.

Работа выполнена в рамках Государственного задания «Изучение морфо-биологических особенностей патогенных мукоромицетов – возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитами» (2019-2021 гг.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Хостелиди С.Н., Шадринова О.В., Борзова Ю.В. и др. Клинико-лабораторные особенности мукормикоза у взрослых. Проблемы медицинской микологии. 2020; 22 (2): 22-27. [Khostelidi S.N., Shadrivova O.V., Borzova Yu.V., et al. Clinical and laboratory features of mucormycosis in adults. Problems in Medical Mycology. 2020; 22 (2): 22-27 (In Russ)]. doi:10.24412/1999-6780-2020-2-22-28
2. Самтон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Издательство «Мир», 2001: 486 с. [Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi. M.: Mir Publishing House, 2001: 486 p. (In Russ)].
3. Alastruey-Izquierdo A., Hoffmann K., de Hoog G.S., et al. Species recognition and clinical relevance of the zygomycetous genus *Lichtheimia* (syn. *Absidia* Pro Parte, *Mycocladius*). J. Clin. Microbiol. 2010. 48: 2154-2170. doi: 10.1128/JCM.01744-09
4. Atlas of Clinical Fungi (electronic version) CBS 201

Поступила в редакцию журнала 31.03.2021

Рецензент: И.А. Босак

XXIX КОНГРЕСС ЕВРОПЕЙСКОЙ АКАДЕМИИ ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ (EADV)

¹Медведева Т.В. (дерматовенеролог)*,
²Леина Л.М. (доцент)

¹НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

XXIX CONGRESS OF EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEROLOGY (EADV)

¹Medvedeva T.V. (dermatovenereologist),
²Leina L.M. (associate professor)

¹Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov;
²St.Petersburg State Pediatric Medical University, St.Petersburg, Russia

Состоявшийся с 28 октября по 1 ноября 2020 года XXIX Конгресс Европейской Академии Дерматовенерологии (EADV) был поистине уникальным, первым в истории данной организации, проходившим виртуально. Это было обусловлено неоднозначной эпидемиологической обстановкой в отношении инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-19.



EADV представляет собой ведущее в Европе сообщество, созданное с целью расширения знаний

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

специалистов, работающих в области дерматовенерологии, на сегодняшний день насчитывающее около 8000 членов из 113 стран мира. Несмотря на нестандартные условия проведения Конгресса, в его работе приняли участие 11000 человек из различных стран мира; состоялось 200 научных сессий, в проведении которых были задействованы более 550 «лидеров мнений» в соответствующих областях; опубликовано более 1600 тезисов.

Безусловно, в тематике данного форума значительное место занимала самая актуальная в 2020 году проблема – диагностика и борьба с коронавирусной инфекцией. По предварительным данным, около 35% больных с COVID-19 имеют дерматологические проявления, которые могут отличаться по продолжительности существования и играют определенную роль в прогнозе дальнейшего течения заболевания. В основном средняя продолжительность «кожной» симптоматики в рамках данной инфекции составляет около 12 дней, но описаны и случаи, протекающие до 150 дней. Часто встречается крапивница, которая длится около 5 дней; папуло-сквамозная сыпь (20 дней) и прогностически наиболее неблагоприятный признак – так называемые «COVID- пальцы», напоминающие ознобление или отморожение (симптом может существовать от 15 до 130-150 дней).

На заседании ENS (European Nail Society), которое традиционно проходит накануне официального открытия Конгресса EADV, был представлен интереснейший доклад М. Starace (Италия, Болонья), посвященный изменению ногтей при COVID-19. Было отмечено, что выделяют системные и дерматологические проявления этой инфекции. К числу системных относят лихорадку, респираторные, гастроинтестинальные, офтальмологические и прочие симптомы, к дерматологическим – кожные сыпи, манифестацию в виде пурпуры, акродерматит, а также изменения волос (телогеновое выпадение волос, триходинию, андрогенную алопецию) и ногтей пластинок. Из изменений ногтей пластинок при COVID-19 описан синдром «красного полумесяца» (red half – moon nail sign), появление линий Бо-Рейля, а также развитие линий Ми (поперечных лейконихий). Последние возникали на фоне терапии лопинавиром и ритонавиром.

Проблемы дерматомикологии также не остались без внимания в программе Виртуального Конгресса EADV. Наибольшее количество научных сессий, освещающих проблемы медицинской микологии, было посвящено онихомикозам – диагностике, вопросам терапии, проблемам безопасности используемых лекарственных средств. Один из фундаментальных докладов на эту тему сделал известный миколог N.H. Shear (Канада, Торонто). В нем он выделил основные «болевые» точки данной патологии:

сложность выявления причинного патогена, вызвавшего онихомикоз, что является необходимым для достижения успеха в лечении, а также что подходы к терапии данного заболевания нередко балансируют между понятиями «эффективность» и «безопасность». В сообщении был приведен сравнительный анализ различных методов диагностики онихомикозов: КОН-теста, культурального метода, гистопатологического метода, полимеразной цепной реакции и поточной цитометрии (последний в России практически не используется).

В презентации В.М. Piraccini (Италия, Болонья), представленной на заседании ENS-общества, внимание было уделено особым вариантам онихомикозов: наряду с хорошо известными – дистальным подногтевым онихомикозом, онихолизисом, подногтевым гиперкератозом и дерматофитомой, автор выделил меланонихию микотического генеза и пигментированный онихомикоз. В качестве этиологических агентов, вызывающих микотическую меланонихию, указывались *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Trichophyton rubrum*, а также возбудители феогифомикозов. Одним из основных диагностических признаков пигментированного онихомикоза было сочетание нескольких цветов в окрашивании ногтевой пластинки (обязательно более двух): например, сочетание белых, желтых полос и черных пятен.

Проблемы микологии обсуждали не только на научных заседаниях, проводимых в рамках Виртуального Конгресса EADV, но и на сателлитных симпозиумах, организованных фармацевтическими холдингами. Так, компания «Галдерма», в результате анализа последних литературных публикаций, при проведении своего мероприятия заострила внимание на проблеме необходимости комбинированной терапии онихомикозов. Также на данном заседании был представлен доклад о проникновении и обнаружении топических антифунгальных средств в инфицированной ногтевой пластинке с помощью метода MALDI-MSI (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Imaging).

Проведение следующего, XXX Конгресса EADV запланировано с 29 сентября по 2 октября 2021 года в г. Вена.