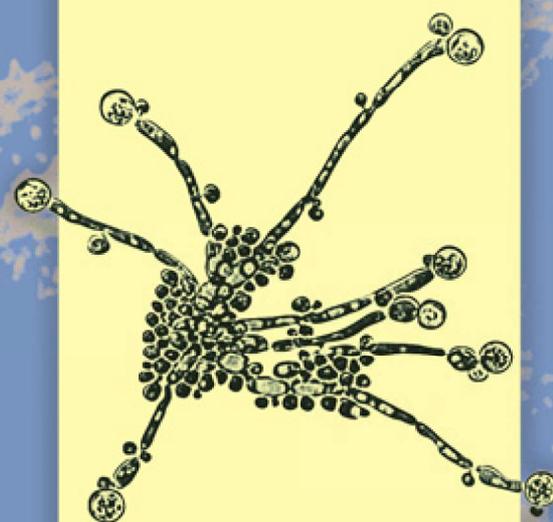


ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 24 №1



Problems in medical mycology

Vol.24 №1

2022

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. 24, № 1, 2022

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 24, № 1, 2022

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

<i>Фролова Е.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Соловьева Г.И., Евсеева А.В., Кривцун О.А., Борзова Ю.В., Шурпицкая О.А., Тараскина А.Е., Соболев А.В., Шабашова Н.В.</i> Мониторинг иммунологических показателей у реконвалесцентов COVID-19.....	3
<i>Васильев Н.Ю., Соболев А.В.</i> Влияние коморбидной патологии на течение новой коронавирусной инфекции у пациентов с бронхиальной астмой. Обзор литературы	11

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ И ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЯ

<i>Чарушин А.О., Хостелиди С.Н., Боровинский Р.И., Чарушина И.П., Еловигов А.М., Авдеенко Ю.Л., Клишко Н.Н.</i> Первое описание клинического случая мукормикоза околоносовых пазух в Пермском крае.....	19
<i>Хаббус А.Г., Слободских Е.О., Тихомирова А.Д., Пирятинская В.А., Белова Е.А., Кляус Н.А., Агафонова Е.Р., Шилец Е.Н.</i> Редкий случай красной опухолевидной волчанки.....	25
<i>Раводин Р.А., Корнишева В.Г.</i> Неинвазивные методы диагностики Терра фирма-формного дерматоза, или грязного дерматоза Дункана.....	32
<i>Хаббус А.Г., Слободских Е.О., Тихомирова А.Д., Белова Е.А., Агафонова Е.Р., Левикин К.Е.</i> Особенности диагностики редкой формы красного плоского лишая на примере синдрома Литтла-Лассюэра-Пикарди.....	36

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

<i>Рябинин И.А., Сальникова В.А., Васильева Н.В.</i> Аннотация MALDI-масс-спектров клеточной биомассы штаммов <i>Candida albicans</i> Berkhout.....	41
<i>Ковыршин С.В., Выборнова И.В., Босак И.А.</i> Биохимические особенности возбудителей мукормикоза.....	53

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

<i>Frolova E.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Solovieva G.I., Evseeva A.V., Krivtsun O.A., Borzova Yu.V., Shurpitskaya O.A., Taraskina A.E., Sobolev A.V., Shabashova N.V.</i> Monitoring of immunological parameters in COVID-19 reconvalescents.....	3
<i>Vasiliev N.Y., Sobolev A.V.</i> Impact of comorbid pathology on the course of a new coronavirus infection in patients with bronchial asthma. Literature review	11

CLINICAL MYCOLOGY AND DERMATOVENEROLOGY

<i>Charushin A.O., Khostelidi S.N., Borovinsky R.I., Charushina I.P., Elovikov A.M., Avdeenko Y.L., Klimko N.N.</i> The first clinical case of invasive mucormycosis of the paranasal sinuses in the Perm region	19
<i>Khabbus A.G., Slobodskikh E.O., Tikhomirova A.D., Piryatinskaya V.A., Belova E.A., Klyaus N.A., Agafonova E.R., Shiletc E.N.</i> A rare case of lupus erythematosus tumidus.....	25
<i>Ravodin R.A., Kornisheva V.G.</i> non-invasive diagnostic methods of Terra firma-forme dermatosis or Duncan's dirty dermatosis... ..	32
<i>Khabbus A.G., Slobodskikh E.O., Tikhomirova A.D., Belova E.A., Agafonova E.R., Levikin K.E.</i> Features of the diagnosis of a rare form of lichen planus on the example of the Little-Lassueur-Picardi Syndrome.....	36

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

<i>Ryabinin I.A., Salnikova V.A., Vasilyeva N.V.</i> Annotation of mass-spectra of cellular biomass from <i>Candida albicans</i> Berkhout strains.....	41
<i>Kovyrshyn S.V., Vybornova I.V., Bosak I.A.</i> Biochemical features of mucormycosis etiological agents.....	53

МОНИТОРИНГ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ COVID-19

Фролова Е.В. (зав. лаб.)*, Филиппова Л.В. (с.н.с., доцент), Учеваткина А.Е. (с.н.с.), Соловьева Г.И. (в.н.с.), Евсеева А.В. (клинический ординатор), Кривцун О.А. (клинический ординатор), Борзова Ю.В. (зав. клиникой, доцент), Шурпицкая О.А. (зав. лаб.), Тараскина А.Е. (зав. лаб.), Соболев А.В. (профессор кафедры), Шабашова Н.В. (профессор кафедры)

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

Ведущим патогенетическим механизмом заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, является дисбаланс иммунного ответа, обусловленный нарушением цитокиновой регуляции, в первую очередь недостаточным синтезом интерферонов. Этот процесс сопровождается последующей гиперпродукцией других провоспалительных цитокинов, приводящей к выраженному воспалению с повреждением различных органов и тканей. Сведения об иммунологических последствиях новой коронавирусной инфекции для здоровья человека ограничены. Целью настоящего исследования был мониторинг иммунологических показателей у больных, перенесших новую коронавирусную инфекцию в раннем и позднем периодах реконвалесценции. В исследование включили 20 пациентов старше 18 лет с тяжелым и среднетяжелым течением COVID-19. Проводили исследование субпопуляций лимфоцитов, уровней интерферонов и IgG к SARS-CoV-2. На протяжении всего периода наблюдения у реконвалесцентов COVID-19 выявили снижение способности клеток крови к продукции IFN α и IFN γ и уменьшение числа NK-клеток на фоне повышенного числа активированных CD4⁺CD25⁺CD127⁺T-хелперов, NKT-клеток и уровней IgA по сравнению с показателями контрольной группы. Установлено, что все реконвалесценты через 8-9 месяцев после выписки из стационара жаловались на выраженную усталость. Сохраняющийся дисбаланс иммунологических показателей и нарушение общего самочувствия реконвалесцентов COVID-19 является показанием для дальнейшего мониторинга иммунологических показателей и поиска персонализированной иммуномодулирующей терапии.

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

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

MONITORING OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN COVID-19 RECONVALESCENTS

Frolova E.V. (head of the laboratory), Filippova L.V. (senior scientific researcher, associate professor), Uchevatkina A.E. (senior scientific researcher), Solovieva G.I. (leading scientific researcher), Evseeva A.V. (clinical resident), Krivtsun O.A. (clinical resident), Borzova Yu.V. (head of the clinic, associate professor), Shurpitskaya O.A. (head of the laboratory), Taraskina A.E. (head of the laboratory), Sobolev A.V. (professor of the department), Shabashova N.V. (professor of the department)

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

The leading pathogenetic mechanism of the disease caused by the SARS-CoV-2 virus is an imbalance of the immune response caused by a violation of cytokine regulation, primarily insufficient synthesis of interferons. This process is accompanied by subsequent hyperproduction of other pro-inflammatory cytokines, leading to severe inflammation with damage to various organs and tissues. Information on the immunological consequences of the new coronavirus infection for human health is limited. The aim of this study was to monitor immunological parameters in patients who had a new coronavirus infection in the early and late periods of convalescence. The study included 20 patients over the age of 18 with severe and moderate COVID-19. Lymphocyte subpopulations, interferon and IgG levels to SARS-CoV-2 were studied. During the entire observation period, COVID-19 convalescents revealed a decrease in the ability of blood cells to produce IFN α and IFN γ and a decrease in the number of NK cells against the background of an increased number of activated CD4⁺CD25⁺CD127⁺T helper cells, NKT cells and IgA levels compared with those of the control group.

It was found that all convalescents complained of severe fatigue 8-9 months after discharge from the hospital. The persistent imbalance of immunological indicators and the violation of the general well-being of COVID-19 convalescents is an indication for further monitoring of immunological indicators and the search for personalized immunotropic therapy.

Keywords: new coronavirus infection, MERS-CoV-2, COVID-19 convalescents, lymphocyte subpopulations, interferons, antibodies, convalescence period

ВВЕДЕНИЕ

В 2019 г. идентифицирован и охарактеризован новый коронавирус SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2), который явился причиной пандемии коронавирусной болезни-2019 (COVID-19 – Coronavirus Disease-2019) [1]. На 1 марта 2022 г. подтверждено более 437 млн. случаев заболевания COVID-19 и более 5,9 млн. смертей, что указывает на серьезную угрозу жизни и

здоровью населения мира [2]. Клинические проявления инфекции SARS-CoV-2 варьируют от бессимптомных и легких форм до крайне тяжелых с развитием острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), септического шока и полиорганной недостаточности [3]. Установлено, что различные симптомы, сопутствующие COVID-19, сохраняются долгое время у значительного числа выздоровевших пациентов [4]. Однако COVID-19 – это новое заболевание, и остается неопределенность в отношении возможных долгосрочных последствий для здоровья человека. Huang C. с соавт. показали, что через 6 месяцев после выписки из стационара реконвалесцентов COVID-19 в основном беспокоили усталость, мышечная слабость, проблемы со сном, тревога или депрессия [5]. В другой работе установлено, что ухудшение качества жизни после перенесенной инфекции было связано с пожилым возрастом, женским полом, тяжелым течением болезни. Наиболее распространенными симптомами были усталость, потливость, стеснение в груди, тревога и миалгия [6]. Мета-анализ 18 исследований, посвященных изучению состояния здоровья реконвалесцентов COVID-19 в течение одного года после перенесенного заболевания, показал, что наиболее частыми проявлениями были усталость/слабость (28%), одышка (18%), артромиалгии (26%), депрессия (23%), тревога (22%), потеря памяти (19%), затруднения с концентрацией внимания (18%) и бессонница (12%). Был сделан вывод, что год спустя у значительной части реконвалесцентов COVID-19 все еще имели место остаточные симптомы, связанные с перенесенной инфекцией [7]. Таким образом, вопрос о патофизиологических механизмах, которые лежат в основе влияния новой коронавирусной инфекции на состояние здоровья человека, остается открытым.

Знания, накопленные при исследовании иммунопатогенеза SARS-CoV и MERS-CoV, свидетельствуют о том, что создание эффективных лекарственных и профилактических средств невозможно без расшифровки особенностей взаимодействия между коронавирусами и иммунными клетками макроорганизма. При коронавирусной инфекции выявлены нарушения в системе врожденного и адаптивного противовирусного иммунитета, интерфероногенеза. Установлено, что дисбаланс различных субпопуляций Т-лимфоцитов сохраняется длительно и требует иммуномодулирующей фармакокоррекции и реабилитации [8, 9]. Однако литературные данные, описывающие изменения иммунологических показателей в динамике после выписки из стационара реконвалесцентов COVID-19, немногочисленны, а время наблюдения варьировало от 4 недель после появления симптомов до 1 года после заражения SARS-CoV-2 [10-13].

Следовательно, реабилитация реконвалесцентов

COVID-19 должна быть комплексной, влияющей на все звенья патогенеза, в том числе иммунологические.

Цель данного исследования: провести мониторинг иммунологических показателей у пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию в разные сроки периода реконвалесценции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование включили 20 реконвалесцентов COVID-19, проходивших лечение и наблюдение на базе НИИ медицинской микологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова в период с июля 2020 г. по май 2021 г. Среди обследованных было 48% мужчин и 52% женщин в возрасте от 42 до 77 лет (медиана – 57 (48-67)). У 16 (80%) реконвалесцентов диагностировали среднетяжелое течение COVID-19, у 4 (20%) – тяжелое [3]. Диагноз COVID-19 был установлен на основании положительного результата лабораторного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2 с применением методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК). Группу сравнения составили 25 условно здоровых лиц (47% мужчин и 53% женщин) в возрасте от 21 до 68 лет (медиана – 43 года). Иммунологическое обследование проводили в динамике: первоначально через 23,0 дня (22,0-28,0) после госпитализации (ранний период реконвалесценции), повторно – в поздний период реконвалесценции через 8-9 месяцев от момента выздоровления.

Имунофенотипирование лимфоцитов периферической крови осуществляли методом 6-цветного цитофлуориметрического анализа с использованием проточного цитометра Navios™ (Beckman Coulter, США). Подготовку образцов периферической крови и настройку цитофлуориметра выполняли в соответствии с национальными рекомендациями [15]. Лимфоциты окрашивали мечеными флуорохромами моноклональными антителами (Beckman Coulter, США) согласно рекомендациям производителя: CD45-PC5/5, CD4-FITC, CD8-ECD, CD3-APC, CD19-FITC, CD56-PC7 и CD25-PE (Beckman Coulter, США). После внесения антител образцы тщательно перемешивали, затем инкубировали при комнатной температуре 15 минут в защищенном от света месте. По завершении инкубации при постоянном перемешивании добавляли 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 проанализировали с помощью программного обеспечения Navios™ Software v1.2 (Beckman Coulter, США). Для дополнительной характеристики Т-клеточного звена иммунной системы вычисляли им-

мунорегуляторный индекс (ИРИ) – соотношение $CD45^+CD3^+CD4^+ / CD45^+CD3^+CD8^+$.

Оценку Т-регуляторных лимфоцитов (Treg) проводили методом проточной цитометрии при окрашивании лимфоцитов периферической крови моноклональными антителами CD4-FITC, CD127-PC7 и CD25-PE (Beckman Coulter, США). Инкубацию осуществляли в тех же условиях, что и при 6-цветном анализе. После инкубации добавляли 500 мкл лизирующего раствора VersaLyse Lysing Solution и 12,5 мкл фиксирующего раствора Fixative Solution IOTest 3 (BeckmanCoulter, 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 $CD4^+CD25^+CD127^-$ Treg и $CD4^+CD25^+CD127^+$ Т-хелперы активированные (Th act), получая их относительное количество (%).

Для исследования индуцированной продукции $IFN\gamma$ и $IFN\alpha$ использовали гепаринизированную кровь, разведенную в 5 раз полной питательной средой (ППС): среда RPMI 1640 с добавлением L-глутамина (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 добавляли 100 мкл рабочего раствора фитогемагглютинаина-П (ФГА-П) (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% CO_2 в CO_2 -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 иммунотурбидиметрическим методом с применением коммерческих наборов (Vital, Россия). Иммуноглобулины класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью набора реагентов «SARS-CoV-2 IgG» (научно-производственная фирма ЛИТЕХ, Россия), предназначенного для качественного выявления иммуноглобулинов. Содержание иммуноглобулинов

класса G к коронавирусу SARS-CoV-2 расценивали как положительное при КП (индекс антител) $\geq 1,1$.

Уровень патологической усталости оценивали с помощью «шкалы оценки усталости» – Fatigue Assessment Scale (FAS) [16]. Шкала FAS разработана группой нидерландских исследователей под руководством H.J. Michielsen и обладает высокой надежностью и доказанной эффективностью при исследовании усталости у пациентов с широким спектром заболеваний, а также у здоровых людей [17]. Шкала FAS состоит из 10 вопросов, из них 5 вопросов психической усталости и 5 – физической. Результаты опросника подсчитываются суммированием баллов, которые могут колебаться от 10 до 50. При показателе 22 балла и выше можно говорить о наличии у пациента синдрома патологической усталости. Также оценивали нарушение сна, выпадение волос, болевые ощущения, субфебрильную температуру, аносмию, нарушение когнитивных функций и другие показатели общего самочувствия.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ

Известно, что в ответ на инфицирование SARS-CoV-2 в организме развиваются защитные реакции, обусловленные активацией врожденного и приобретенного иммунитета [4, 9]. В нашем исследовании в ранний и поздний периоды выздоровления у реконвалесцентов COVID-19 не установлено статистически значимых различий в абсолютном количестве лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов по сравнению с контрольными показателями (табл.1). Во многих исследованиях авторы сообщают о лимфоцитопении после заражения SARS-CoV-2 в острый период заболевания при тяжелом течении заболевания [18-22]. Однако у пациентов с более легким течением COVID-19 количество лимфоцитов оставалось в пределах нормы [12].

Сравнительный анализ числа $CD4^+$ Т-хелперов и цитотоксических $CD8^+$ Т-лимфоцитов на протяжении всего периода наблюдения также не выявил достоверных отличий от показателей контрольной группы (табл.1).

Таблица 1
Динамика субпопуляционного состава лимфоцитов крови у реконвалесцентов COVID-19 (n=20)

Показатели		Группы		
		Условно здоровые	Реконвалесценты COVID-19	
			1	2
Лейкоциты	x10 ⁹ /л	5,70 (5,30-6,30)	5,90 (4,60-9,15)	6,20 (5,00-7,20)
	%	36,00 (34,00-37,00)	38,00 (30,00-45,50)	39,00 (33,00-51,00)
Лимфоциты	x10 ⁹ /л	1,98 (1,89-2,28)	2,21 (1,87-3,32)	2,29* (2,14-2,95)
	%	54,00 (50,00-59,00)	55,00 (40,00-60,00)	51,00 (43,00-58,00)
Нейтрофилы	x10 ⁹ /л	3,07 (2,65-3,72)	3,24 (1,43-5,24)	3,27 (2,15-3,67)
	%	76,00 (70,00-77,00)	76,50 (73,50-78,50)	73,00 (60,00-79,00)
Т-лимфоциты CD3 ⁺ CD19 ⁻	x10 ⁹ /л	1,48 (1,32-1,65)	1,73 (1,44-2,44)	1,63 (1,47-1,70)
	%	45,00 (42,00-49,00)	50,00 (43,00-58,00)	41,00 (30,00-53,00)
Т-хелперы CD3 ⁺ CD4 ⁺	x10 ⁹ /л	0,88 (0,83-1,01)	1,04 (0,90-1,83)	0,91 (0,85-1,22)
	%	26,00 (24,00-29,00)	22,50 (20,00-27,00)	23,00 (20,00-33,00)
Т-цит CD3 ⁺ CD8 ⁺	x10 ⁹ /л	0,54 (0,45-0,63)	0,51 (0,42-0,83)	0,56 (0,43-0,75)
	%	11,00 (10,00-13,00)	11,50 (7,30-16,00)	9,00 (7,00-17,00)
В-лимфоциты CD3 ⁺ CD19 ⁺	x10 ⁹ /л	0,23 (0,19-0,29)	0,26 (0,13-0,56)	0,22 (0,16-0,40)
	%	1,70 (1,60-1,90)	2,20 (1,55-2,95)	1,60 (1,00-3,00)

Примечание. Представлены медианные значения с интерквартильным размахом Me (Q₂₅-Q₇₅): 1 – ранний период реконвалесценции; 2 – поздний период реконвалесценции. Статистически значимые различия по сравнению с контролем (условно здоровые) выявлены с использованием критерия Манн-Уитни (*p < 0,001).

Известно, что Т-клетки играют важную роль в клеточно-опосредованном иммунном ответе на вирусную инфекцию и связаны с тяжестью течения COVID-19 [10-13]. CD4⁺Т-хелперы способствуют выработке антител В-клетками и поддерживают цитотоксическую активность CD8⁺Т-клеток. Цитотоксические CD8⁺ Т-клетки способны непосредственно распознавать вирусные пептиды, которые представлены на поверхности инфицированных клеток, вызывая апоптоз и предотвращая дальнейшее распространение вируса. Согласно недавнему исследованию, при прогрессировании заболевания наименьшее число В-клеток и CD4⁺Т-хелперов обнаруживается на второй неделе, цитотоксических CD8⁺Т-лимфоцитов – на третьей неделе после появления симптомов новой коронавирусной инфекции. По мере выздоровления число Т-клеток постепенно вос-

становливалось, но длительно сохранялись признаки истощения цитотоксических CD8⁺Т-лимфоцитов у реконвалесцентов тяжелой формы COVID-19 [19]. В других работах у реконвалесцентов COVID-19, перенесших тяжелую форму инфекции, выявлена устойчивая лимфопения со снижением числа основных субпопуляций Т-клеток [21-23]. Нами также было установлено снижение числа CD4⁺Т-хелперов и CD8⁺Т-клеток на ранней стадии выздоровления у больных тяжелой формой COVID-19 [24]. Однако полученные отличия в содержании основных иммунорегуляторных клеток в данном исследовании можно объяснить тем, что большинство реконвалесцентов COVID-19 (80%) перенесли инфекцию в среднетяжелой форме.

Считается, что NK-клетки совместно с цитотоксическими Т-лимфоцитами играют ключевую роль в уничтожении вирусов при респираторных инфекциях за счет прямой цитотоксичности и секреции цитокинов. Однако точная роль этих клеток в защите от SARS-CoV-2 и патофизиологии заболевания не определена [9]. В нашем исследовании выявлено устойчивое снижение относительного (p<0,001) и абсолютного числа NK-клеток (p<0,001, p<0,05 соответственно) по сравнению с контрольными показателями как в раннем периоде реконвалесценции, так и через 8-9 месяцев после выписки (Рис.1А). Полученные данные совпадают с результатами других авторов, которые установили как снижение числа NK-клеток, так и признаки истощения их цитотоксической активности на фоне повышенной продукции цитокинов в острую фазу заболевания и у реконвалесцентов COVID-19 [23, 25]. До сих пор неясно, связано ли снижение числа NK-клеток с их гибелью в результате действия SARS-CoV-2 или с проникновением воспалительных NK-клеток в легочную ткань. Однако маловероятно, что SARS-CoV-2 непосредственно вызывает гибель NK-клеток, подобно тому, как это установлено при гриппе [26]. Особенностью фенотипа NK-клеток пациентов и реконвалесцентов COVID-19 была повышенная экспрессия различных регуляторных молекул, таких как PD-1, CD244 (также известный как 2B4), CD39, NKG2A, на фоне снижения уровней цитотоксических эффекторных молекул, включая гранзим А и перфорин [27-29]. Считается, что данный фенотип клеток свидетельствует об истощении цитотоксического потенциала NK-клеток. Тем не менее, необходимы дополнительные исследования для определения причин снижения количества и функциональной активности NK-клеток у пациентов с COVID-19.

Интерфероны I типа (IFN) обеспечивают первую линию защиты, предотвращая распространение вирусной инфекции. При исследовании в динамике выявлено ослабление способности клеток крови реконвалесцентов COVID-19 к синтезу IFNα. По-

казатели продукции IFN α на раннем сроке выздоровления от COVID-19 были достоверно ниже контрольных цифр ($p < 0,001$) (Рис. 1B). При повторном обследовании уровень IFN α был достоверно выше, чем при первичном наблюдении, но не достигал контрольных значений ($p < 0,001$) (Рис. 1B). Полученные данные свидетельствуют о существенном угнетении интерферогенеза у реципиентов COVID-19 на позднем сроке выздоровления, что согласуется с результатами других авторов, которые продемонстрировали, что у тяжелобольных пациентов с COVID-19 имеет место низкое содержание IFN α на фоне высоких уровней провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF- α [30]. В другом исследовании также было показано, что SARS-CoV-2, как и SARS-CoV, подавляет синтез IFN 1-го и 3-го типов, что приводит к повышенной выработке IL-6, IL-1R α , хемокинов CXCL2 и CXCL8, способствующих привлечению различных иммунных клеток в очаг инфекции [31]. Lucas C. и соавторы показали, что даже у пациентов с легкими течением COVID-19 снижены уровни IFN 1-го и 3-го типов [32].

IFN γ является ключевым цитокином Т-хелперов 1-го типа (Th1), которые играют главную роль в предотвращении вирусных инфекций. Большинство Т-лимфоцитов при инфекции SARS-CoV-2 превращаются в клетки Th1 [4]. В нашем исследовании установлено, что показатели продукции IFN γ не различались между собой на раннем и позднем сроках реконвалесценции после перенесенного COVID-19 ($p = 0,182$), но были достоверно ниже контрольных значений ($p < 0,001$) (Рис. 1B). Наши данные согласуются с результатами других авторов, которые установили, что у пациентов с COVID-19 количество CD4 $^+$ и CD8 $^+$ Т-клеток, секретирующих IFN γ , существенно снижено по сравнению с контрольной группой [32, 33]. Эти результаты указывают на функциональное истощение цитотоксических CD8 $^+$ Т-лимфоцитов, которое сохраняется и после выздоровления. Ситдикова Т.С. с соавт. обнаружили, что у пациентов с COVID-19 в период реконвалесценции сохраняется низкое содержание в сыворотке крови IFN- γ и отмечается дисбаланс регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов за счет снижения числа CD8 $^+$ Т-клеток [34]. Таким образом, можно сделать вывод, что SARS-CoV-2 вызывает нарушение регуляции как врожденного, так и приобретенного иммунитета, модулируя ответы, опосредованные IFN 1-го и 2-го типов.

Напротив, при мониторинге иммунных показателей установлено, что повышенное относительное и абсолютное число НКТ-клеток сохраняется длительное время у реконвалесцентов новой коронавирусной инфекции ($p < 0,05$) (Рис. 1C). Считается, что НКТ-клетки способны продуцировать широкий спектр цитокинов и играют регуляторную роль при

различных иммунопатологических процессах. Тем не менее, данные о значении НКТ-клетки в патогенезе новой коронавирусной инфекции ограничены [9]. Возможно, повышенное число НКТ-клеток в циркуляции стремится ограничить длительно сохраняющийся воспалительный процесс у реконвалесцентов COVID-19 или выполняет заместительную роль при дефиците других цитотоксических клеток.

Среди Т-хелперов регуляторные Т-клетки (Treg) играют важную роль в поддержании иммунной толерантности и уменьшении выраженности инфекционно-воспалительного повреждения тканей [8]. Отмечено снижение числа Treg у пациентов с тяжелым течением COVID-19 [35]. В нашем исследовании не выявлено изменений в числе Treg на раннем и позднем сроках выздоровления больных COVID-19 (Рис. 1D), что согласуется с результатами других авторов [11]. Однако установлено достоверно более высокое абсолютное число активированных Т-хелперов (Th act) по сравнению с показателями условно здоровых лиц ($p < 0,05$) (Рис. 1E), что также может являться признаком ослабления контроля над воспалительным процессом и возможностью перехода инфекционного процесса в хроническую стадию.

При оценке гуморального иммунного ответа не обнаружено достоверных различий в содержании В-лимфоцитов у реконвалесцентов COVID-19 по сравнению с контрольными показателями (табл. 1). Уровень общих IgA был выше нормативных значений на позднем сроке реконвалесценции ($p < 0,001$). Уровень общих IgG был достоверно выше при повторном обследовании реконвалесцентов COVID-19 в сопоставлении с базовыми показателями ($p < 0,05$) (Рис. 1F).

Содержание иммуноглобулинов G к SARS-CoV-2 в сыворотке крови достоверно увеличилось у реконвалесцентов COVID-19 в сравнении с ранним периодом выздоровления ($p < 0,05$) (Рис. 1G).

Полученные данные свидетельствуют о снижении числа НК-клеток и истощении способности клеток крови к продукции интерферонов на фоне повышенного числа НКТ-клеток, Th act, уровней IgA и IgG у реконвалесцентов COVID-19. Изменение этих параметров указывает на угнетение механизмов врожденного и приобретенного противовирусного иммунитета и возможного формирования и/или активации хронической воспалительной патологии у людей, перенесших новую коронавирусную инфекцию.

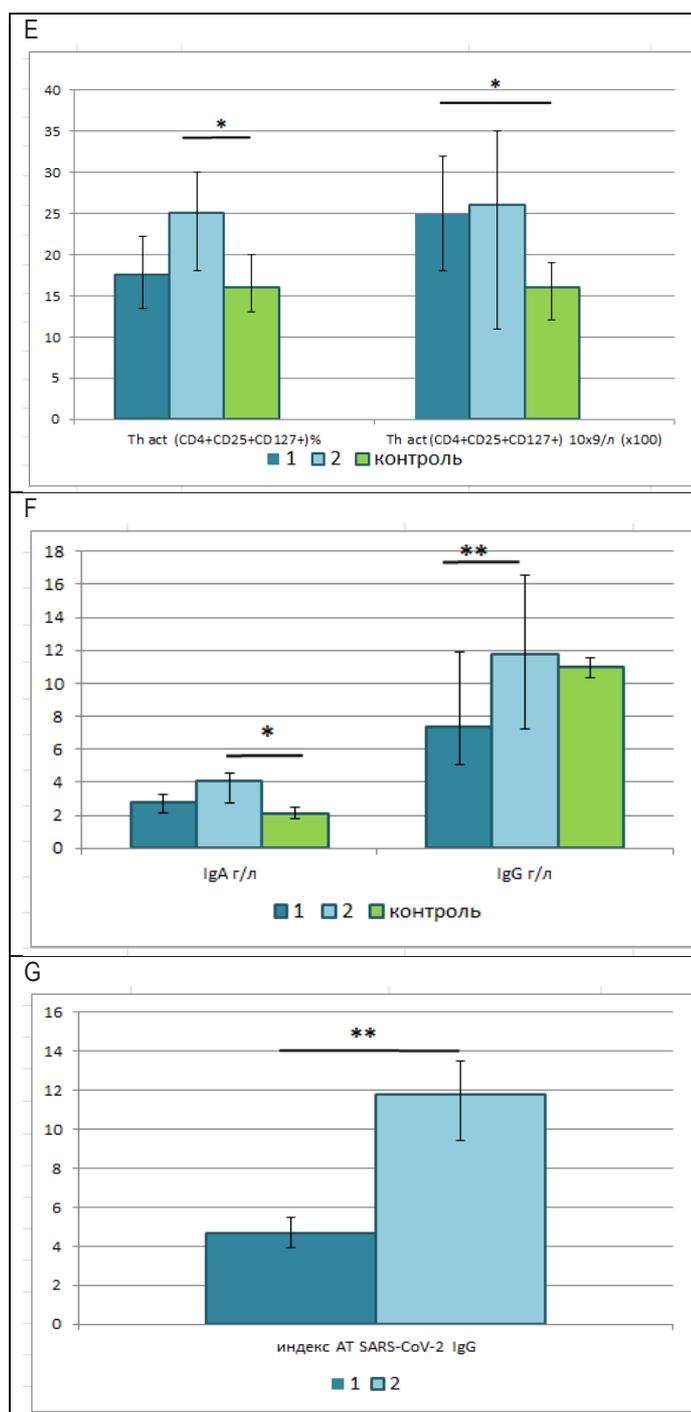
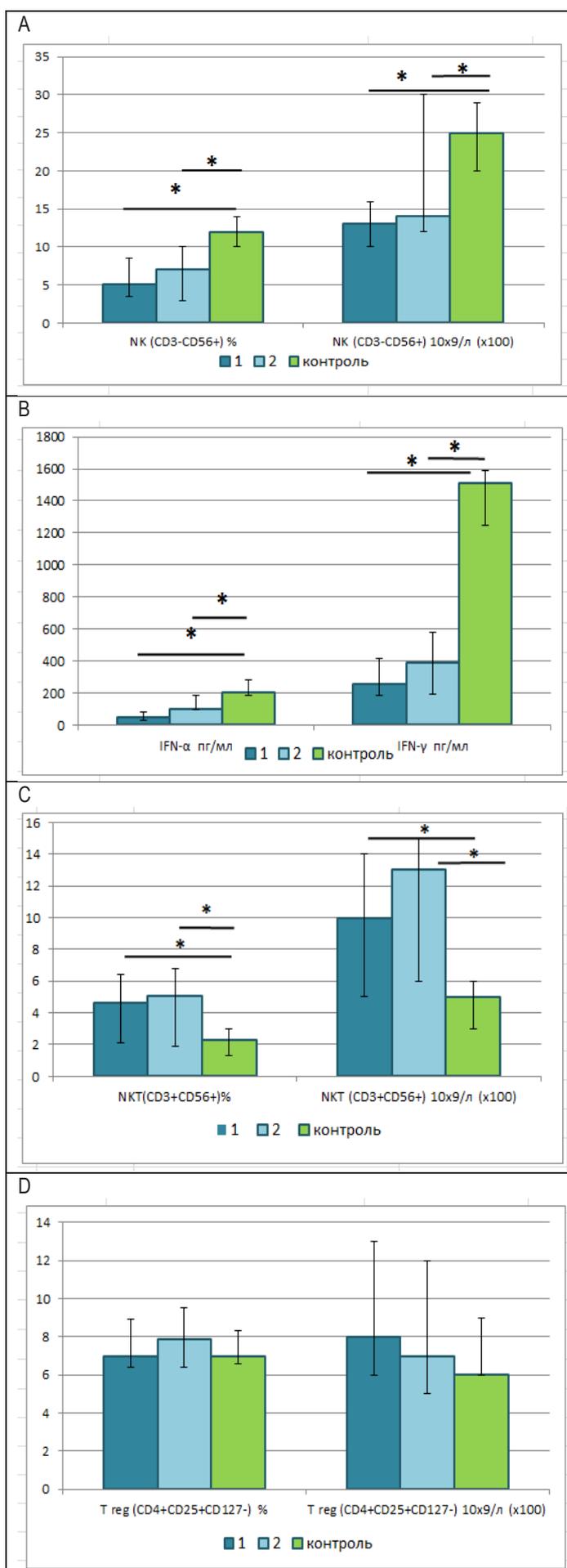


Рис. 1. Динамика иммунологических показателей у реконвалесцентов COVID-19 (n=20). Представлены медианные значения с интерквартильным размахом Me (Q₂₅-Q₇₅): 1 – ранний период реконвалесценции; 2 – поздний период реконвалесценции. А – NK-клетки CD3⁺CD56⁺, В – уровни продукции IFNα и IFNγ, С – NKT-клетки CD3⁺CD56⁺, D – Treg CD4⁺CD25⁺CD127⁻, E – Th act CD4⁺CD25⁺CD127⁺, F – уровни общих IgA и IgG, G – индекс AT SARS-CoV-2 IgG. Статистически значимые различия по сравнению с контролем выявлены с использованием критерия Манн-Уитни (* - p < 0,05), в зависимых группах – по Вилкоксоу (** - p < 0,05).

Результаты анкетирования с помощью опросника FAS показали, что все реконвалесценты через 8-9 месяцев после выписки из стационара жаловались на выраженную усталость (больше 28 баллов), что со-

гласуется с результатами, полученными другими авторами [5, 7]. При клиническом наблюдении выявили, что в 75% случаев у реконвалесцентов COVID-19 отмечалось нарушение сна, в 60% – болевые ощущения, в 40% – выпадение волос, в 20% – когнитивные нарушения и аносмия. Субфебрильная температура установлена у 4 человек (20%), что согласуется с выявленными нарушениями иммунных показателей.

Таким образом, иммунологические признаки хронического воспалительного процесса и нарушения состояния здоровья у части реконвалесцентов COVID-19 могут служить обоснованием для проведения дальнейшего наблюдения и оценки отсроченных последствий перенесенной инфекции, в том числе влияния на течение уже имеющейся до инфекции хронической воспалительной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Huang C., Wang Y., Li X., et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
2. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU) <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/dashboards/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>
3. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). Коронавирус (COVID-19) Информационная панель (по состоянию на 17 января 2022 г.). Доступно онлайн: <https://covid19.who.int/>
4. Bhardwaj A., Sapra L., Saini Ch. et al. COVID-19: Immunology, Immunopathogenesis and Potential Therapies. *International Reviews of Immunology*. 2022; 41 (2): 171-206. doi: 10.1080/08830185.2021.1883600
5. Huang C., Huang L., Wang Y., et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet*. 2021; 397 (10270): 220-232. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32656-8
6. Zhang X., Wang F., Shen Y., et al. Symptoms and health outcomes among survivors of COVID-19 infection 1 year after discharge from hospitals in Wuhan, China. *JAMA Netw Open*. 2021; 4 (9): e2127403. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.27403
7. Han Q., Zheng B., Daines L., Sheikh A. Long-Term Sequelae of COVID-19: A systematic review and meta-analysis of one-year follow-up studies on post-COVID symptoms. *Pathogens*. 2022; 11 (2): 269. doi: 10.3390/pathogens11020269
8. Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Филиппенко А.В. и др. Роль клеточного звена иммунитета в формировании иммунного ответа при коронавирусных инфекциях. *Медицинская иммунология*. 2021; 23 (6): 1229-1238. [Ivanova I.A., Omelchenko N.D., Filippenko A.V., et al. Role of the cellular immunity in the formation of the immune response in coronavirus infections. *Medical Immunology (Russia)*. 2021; 23 (6): 1229-1238. (In Russ.)] <https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROT-2302>
9. Ahmadi E., Bagherpour Z., Zarei E., et al. A. Pathological effects of SARS-CoV-2 on hematological and immunological cells: Alterations in count, morphology, and function. *Pathol. Res. Pract*. 2022; 231: 153782. doi: 10.1016/j.prp.2022.153782
10. Xiong L., Li Q., Cao X., et al. Dynamic changes of functional fitness, antibodies to SARS-CoV-2 and immunological indicators within 1 year after discharge in Chinese health care workers with severe COVID-19: a cohort study. *BMC Med*. 2021; 19 (1): 163. doi: 10.1186/s12916-021-02042-0
11. 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
12. Liu Y., Tan W., Chen H., et al. Dynamic changes in lymphocyte subsets and parallel cytokine levels in patients with severe and critical COVID-19. *BMC Infect. Dis*. 2021; 21 (1): 79. doi: 10.1186/s12879-021-05792-7
13. 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. *Virology*. 2021; 1-10. doi: 10.1007/s12250-021-00348-0
14. Костинов М.П. Иммунопатогенные свойства SARS-CoV-2 как основа для выбора патогенетической терапии. *Иммунология*. 2020; 41 (1): 83-93. [Kostinov M.P. Immunopathogenic properties of SARS-CoV-2 as a basis for the choice of pathogenetic therapy. *Immunology*. 2020; 41 (1): 83-93 (In Russ.)]. doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-1-83-91
15. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В. и др. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» (Проект). *Медицинская иммунология*. 2012; 14(3): 255-268. [Khaydukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., et al. Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorimeters-analyzers" (Project). *Medical immunology*. 2012; 14 (3): 255-268 (In Russ.)]. doi:10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.

16. Бикбулатова Л.Ф., Кутлубаев М.А., Ахмадеева Л.Р. и др. Шкала оценки усталости: перевод на русский язык, адаптация и оценка психометрических свойств в стационарах клиник неврологии и терапии. Медицинский вестник Башкортостана. 2012; 7 (1): 37-42. [Bikbulatova L.F., Kutlubaev M.A., Akhmadeeva L.R., et al. Fatigue assessment scale: translation into Russian, adaptation and evaluation of psychometric properties in hospitals of neurology and therapy clinics. Medical Bulletin of Bashkortostan. 2012; 7 (1): 37-42 (In Russ.)].
17. Vries J.D., Michielsen H.J., Van Heck G.L. Assessment of fatigue among working people: A comparison of six questionnaires. Occup. Environ. Med. 2003; 60 (1): i10-5. doi:10.1136/oem.60.suppl_1.i10
18. Liu J., Li S., Liu J., et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. eBio Medicine. 2020; 55 (102763). doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102763
19. Yu X., Yang R. Changes of peripheral lymphocyte subset in patients with SARS-CoV-2 infection during the whole course of disease. Expert Rev. Respir. Med. 2021; 15: 553-559. doi:10.1080/17476348.2021.1866991
20. Cantenys-Molina S., Fernandez-Cruz E., Francos P., et al. Lymphocyte subsets early predict mortality in a large series of hospitalized COVID-19 patients in Spain. Clin. Exp. Immunol. 2021; 203: 424-432. doi: 10.1111/cei.13547
21. Gil-Etayo F.J., Suarez-Fernandez P., Cabrera-Marante O., et al. T-helper cell subset response is a determining factor in COVID-19 progression. Front. Cell Infect. Microbiol. 2021; 11: 624483. doi: 10.3389/fcimb.2021.624483
22. Han M., Xu M., Zhang Y., et al. Assessing SARS-CoV-2 RNA levels and lymphocyte/T cell counts in COVID-19 patients revealed initial immune status as a major determinant of disease severity. Med. Microbiol. Immunol. 2020; 209: 657-668. doi:10.1007/s00430-020-00693-z
23. Jiang Y., Wei X., Guan J., et al. COVID-19 pneumonia: CD8 (+) T and NK cells are decreased in number but compensatory increased in cytotoxic potential, Clin. Immunol. 2020; 218:108516. doi: 10.1016/j.clim.2020.108516
24. Фролова Е.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.В. и др. Иммунологические особенности пациентов с COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания. Проблемы медицинской микологии. 2021; 23 (1): 1-13. [Frolova E.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.V., et al. Immunological features of patients with COVID-19 depending on the severity of the disease. Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (1): 1-13 (In Russ.)]. doi: 10.24412/1999-6780-2021-1-3-13.
25. Yan L., Cai B, Li Y., et al. Dynamics of NK, CD8 and Tfh cell mediated the production of cytokines and antiviral antibodies in Chinese patients with moderate COVID-19. J. Cell. Mol. Med. 2020; 24: 14270-14279. doi: 10.1111/jcmm.16044
26. Mao H., Tu W., Qin G., et al. Influenza virus directly infects human natural killer cells and induces cell apoptosis. J. Virol. 2009; 83: 9215-9222. doi: 10.1128/JVI.00805-09
27. Travaglini K.J., Nabhan A.N., Penland L., et al. A molecular cell atlas of the human lung from single-cell RNA sequencing. Nature. 2020; 587 (7835): 619-625. doi: 10.1038/s41586-020-2922-4.
28. Li M., Guo W., Dong Y., et al. Elevated exhaustion levels of NK and CD8+ T cells as indicators for progression and prognosis of COVID-19 disease. Front. Immunol. 2020; 11:580237. doi:10.3389/fimmu.2020.580237. eCollection 2020.
29. Zheng M., Gao Y., Wang G., et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. Cell Mol. Immunol. 2020; 17: 533-535. doi: 10.1038/s41423-020-0402-2
30. Hadjadj J., Yatim N., Barnabei L., et al. Impaired type I interferon activity and exacerbated inflammatory responses in severe COVID-19 patients. Science. 2020; 369 (6504): 718-724. doi:10.1126/scienceabc6027
31. Blanco-Melo D., Nilsson-Payant B.E., Liu W-C., et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. Cell. 2020; 181 (5): 1036-1045.e9. doi:10.1016/j.cell.2020.04.026
32. Lucas C., Wong P., Klein J., et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. Nature. 2020; 584 (7821): 463-469. doi:10.1038/s41586-020-2588-y
33. 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:10.1038/s41423-020-0402-2
34. Ситдикова Т.С., Кабаева А.А., Просекова Е.В. Показатели врожденного и адаптивного иммунитета пациентов при вирусной инфекции, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2. Российский иммунологический журнал. 2021; 24(4): 547-554. [Sitdikova T.S., Kabaeva A.A., Prosekova E.V. Indicators of innate and adaptive immunity of patients with viral infection caused by SARS-CoV-2 coronavirus. Russian Immunological Journal. 2021; 24 (4): 547-554 (In Russ.)]. doi: 10.46235/1028-7221-1051-IOI
35. Qin C., Zhou L., Hu Z., et al. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. Clin. Infect. Dis. 2020; 71 (15): 762-768. doi: 10.1093/cid/ciaa248

Поступила в редакцию журнала 25.03.2022

Рецензенты: Е.П. Киселева, О.В. Шадривова

ВЛИЯНИЕ КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИИ НА ТЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

¹Васильев Н.Ю. (аллерголог-иммунолог)*,
²Соболев А.В. (профессор кафедры)

¹ООО «Медицентр ЮЗ» ²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Появление новой коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2) и вызываемой ею болезни COVID-19 повлияло на течение многих хронических заболеваний, в том числе бронхиальной астмы (БА). Несмотря на наличие разных фенотипов и степени тяжести, это не служит дополнительным фактором тяжелого течения БА, риском обострений и прогрессирования заболевания. Однако наличие коморбидной патологии (ожирения, синдрома обструктивного апноэ сна, гастроэзофагиальной рефлюксной болезни, хронического риносинусита) оказывает значительное влияние как на течение БА, так и COVID-19, приводя не только к утяжелению течения этих заболеваний, но и риску их прогрессирования, возникновению осложнений и неблагоприятного исхода.

Ключевые слова: астма, коморбидная патология, COVID-19, ожирение, синдром обструктивного апноэ сна, гастроэзофагиальная рефлюксная болезнь, хронический риносинусит

IMPACT OF COMORBID PATHOLOGY ON THE COURSE OF A NEW CORONAVIRUS INFECTION IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA. LITERATURE REVIEW

¹Vasiliev N.Y. (allergist-immunologist), ²Sobolev A.V. (professor of the department)

¹LLC Medicenter SW; ²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

The emergence of a new coronavirus infection (SARS-CoV-2) and the COVID-19 disease caused by it has affected the course of many chronic diseases, including bronchial asthma (BA). Despite the presence of different phenotypes and severity, this does not serve as an additional factor in the severe course of BA, the risk of exacerbations and progression of the disease. However, the presence of comorbid pathology (obesity, obstructive sleep apnea syndrome, gastroesophageal

reflux disease, chronic rhinosinusitis) has a significant impact on both the course of asthma and COVID-19, leading not only to the aggravation of the course of these diseases, but also the risk of their progression, the occurrence of complications and adverse outcomes.

Key words: asthma, comorbid pathology, COVID-19, obesity, obstructive sleep apnea syndrome, gastroesophageal reflux disease, chronic rhinosinusitis

Для настоящей статьи был осуществлен развернутый обзор литературы, учитывающий данные, полученные при проведении рандомизированных и нерандомизированных клинических исследований, систематических обзорах. Поиск литературы осуществляли в электронно-поисковой системе национальной медицинской библиотеки США (PUBMED) в период с 2001 по 2022 гг. по следующим ключевым словам: *астма, коморбидная патология, COVID-19, ожирение, синдром обструктивного апноэ сна, гастроэзофагиальная рефлюксная болезнь, хронический риносинусит*. Предпочтение при выборе источника цитирования отдавали мета-анализам, систематическим обзорам.

Бронхиальная астма (БА) – гетерогенное заболевание, характеризующееся хроническим воспалением дыхательных путей, наличием респираторных симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди и кашель, которые варьируют по времени и интенсивности и проявляются вместе с вариабельной обструкцией дыхательных путей [1]. БА относится к числу наиболее частых хронических неинфекционных заболеваний человека. Распространенность БА среди взрослого населения европейских стран составляет 10% [2]. Заболеваемость среди женщин значительно выше по сравнению с мужчинами [3], при этом пики заболеваемости приходятся на возраст 8-10 лет и 60-70 лет соответственно [4].

Выделяют следующие фенотипы БА [1]:

1. Аллергическая БА – самая часто встречающаяся и легко распознаваемая форма, для которой характерны начало в детском возрасте и ассоциация с такими аллергическими заболеваниями, как атопический дерматит, аллергический ринит, пищевая или лекарственная аллергия.

2. Неаллергическая БА – характерна для взрослых и не связана с аллергией. В индуцированной мокроте таких пациентов профиль воспаления может быть нейтрофильным, эозинофильным, смешанным или малогранулоцитарным.

3. БА с поздним дебютом – данный фенотип в основном характерен для женщин, у которых дебют заболевания возникает обычно в возрасте 40-50 лет.

4. БА с фиксированной обструкцией дыхательных путей – этот фенотип наиболее характерен для

* Контактное лицо: Васильев Николай Юрьевич,
e-mail: wwjd2000@mail.ru

пациентов с длительным течением БА, в результате которой развивается стойкая и необратимая бронхиальная обструкция.

5. БА у больных с ожирением – группа пациентов, страдающих ожирением, которые могут иметь выраженные симптомы БА и выраженное эозинофильное воспаление в дыхательных путях.

В 2019 г. была описана новая коронавирусная инфекция (НКИ), получившая своё название (SARS-CoV-2) из-за возникновения тяжелого острого респираторного синдрома, который является причиной новой болезни COVID-19, оказывает своё влияние как на течение БА, так и коморбидной патологии. В настоящее время известно, что некоторые сопутствующие заболевания предрасполагают к высокому риску развития тяжелого течения COVID-19. К ним относятся гипертоническая болезнь, ожирение, сахарный диабет и ишемическая болезнь сердца. Установлено, что БА не является значимым фактором риска тяжелого течения COVID-19, однако коморбидная патология, присутствующая у таких больных, может быть дополнительным фактором риска [1]. Наиболее часто у больных с БА выявляется ожирение, синдром обструктивного апноэ сна (СОАС), хронический риносинусит (ХРС), гастроэзофагиальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) [5]. Поскольку БА является наиболее распространенным хроническим воспалительным заболеванием легких во всем мире, а SARS-CoV-2 в первую очередь поражает верхние и нижние дыхательные пути, что приводит к выраженному воспалению, возникает вопрос о наличии или отсутствии клинической и патофизиологической связи между БА, коморбидной патологией и SARS-CoV-2. При этом важно отметить значительное влияние коморбидной патологии как на течение БА, так и на тяжесть проявления COVID-19.

Бронхиальная астма, ожирение и новая коронавирусная инфекция

Пациенты с БА чаще страдают от ожирения, что согласуется с предыдущими клиническими исследованиями [6, 7]. Ожирение регистрируют у 36% взрослого населения США [8]. Распространенность ожирения при БА в одном европейском исследовании составила 18% среди пациентов с нетяжелой БА и 39% – среди больных с тяжелой астмой [9]. Специфический фенотип тяжелой астмы был выявлен преимущественно в когортах Великобритании и США [10, 11], в то время как в азиатских когортах уровень ожирения был намного ниже [12]. Пациенты с ожирением, по-видимому, представляют специфический фенотип астмы, связанный с нарушением дыхания и снижением жизненной емкости легких (ЖЕЛ), менее выраженным эозинофильным воспалением, а также сниженной реакцией дыхательных путей на бронхолитическую терапию [13-16]. Ожи-

рение может приводить к ошибочному диагнозу БА, поэтому объективные тесты, такие как спирометрия, бодиплетизмография особенно важны для подтверждения наличия обструкции воздушного потока. Ожирение связано также с более слабым контролем симптомов астмы, снижением качества жизни и частыми обострениями [17, 18]. Окружность талии, соотношение талии и роста влияют на наличие симптомов БА, подтверждая важную роль распределения жира в достижении контроля над заболеванием [19].

Ожирение и БА могут быть самостоятельными прогностическими факторами развития таких осложнений, как пневмония и дыхательная недостаточность у больных с коронавирусной инфекцией [20]. По данным литературы, ожирение повышает риск неблагоприятных исходов у госпитализированных пациентов с COVID-19 [21-23]. По сравнению с лицами, страдающими ожирением и не страдающими БА, у больных с астмой и ожирением сепсис развивался в 1,8 раза чаще, был более высокий риск госпитализации в отделение интенсивной терапии (в 1,5 раза) и требовался более длительный период интубации (в 1,9 раза) [24]. Эти показатели характерны для пациентов моложе 65 лет и имеющих ожирение 3 степени [25]. Объяснения этой связи включают в себя наличие хронического воспалительного состояния, чрезмерную реакцию на окислительный стресс, патологически измененные естественные клетки-киллеры [26].

Бронхиальная астма, синдром обструктивного апноэ сна и новая коронавирусная инфекция

Частота сочетания БА и СОАС варьирует и может достигать до 90% у пациентов с тяжелой БА, ухудшая контроль и течение заболевания [27, 28]. По данным мета-анализа [29], риск наличия СОАС у больных БА выше в 2,6 раза. БА и СОАС могут утяжелять течение друг друга [30] и быть частью синдрома перекреста [31]. СОАС часто остаётся недиагностированным [32], а сочетание его с БА снижает его диагностику.

Наиболее частым фенотипом БА, встречающимся у больных с СОАС, является неаллергическая (нейтрофильная) БА что, скорее всего, объясняется общим механизмом патогенеза [33]. Преобладание при СОАС воспаления, обусловленного клетками Th1 типа [11], имеет значение в клинической практике, так как использование ингаляционных глюкокортикостероидов (ГКС) при лечении БА в большей степени влияет на клетки Th2 типа, снижая их эффективность при СОАС. Современные возможности лечения СОАС с использованием искусственной вентиляции лёгких постоянным положительным давлением (СИПАП-терапия) приводят к контролю над заболеванием, но не позволяют снизить гиперре-

активность дыхательных путей, которая лежит в основе патогенеза БА [34]. Принимая во внимание, что и БА, и СОАС сочетаются с ожирением [35], необходимо поиск комплексных подходов к лечению этих заболеваний, которые позволяют оказать влияние на все коморбидные состояния.

СОАС является одним из ведущих факторов, повышающих смертность при COVID-19 [36]. Достаточно часто СОАС сочетается с другими сопутствующими заболеваниями, такими как артериальная гипертензия, ожирение, сердечно-сосудистые заболевания [37]. Наличие СОАС у больных НКИ может приводить к нарастанию гипоксемии и развитию цитокинового шторма [38]. При наличии у больных средней или тяжелой БА они могут испытывать значительно большую гипоксию, которая усиливает тяжесть течения COVID-19 [39]. Возможные обострения атопической БА в период развития пыльцевой аллергии создают дополнительные ограничения воздушному потоку, что приводит к снижению насыщения крови кислородом. Также негативное влияние на течение НКИ оказывает и тот факт, что СОАС часто остаётся недиагностирован или не получает должного лечения из-за высокой стоимости полисомнографии или малой доступности специализированных клиник по проблемам нарушения сна [40]. Принимая во внимание невозможность сложного обследования в условиях специализированной клиники, использование стандартизированных опросников способно значительно упростить выявление СОАС, что в свою очередь может оказать положительное влияние на стратегию и тактику проводимого лечения [41]. Присоединение НКИ на фоне уже имеющегося СОАС может приводить к дальнейшему нарастанию сердечно-сосудистых осложнений в виде аритмии, ишемии миокарда, синдрома гиперкоагуляции, что в итоге может быть причиной неблагоприятных исходов [42].

Бронхиальная астма, хронический риносинусит и новая коронавирусная инфекция

Частота встречаемости ХРС составляет до 75% при легкой или среднетяжелой степени БА [43], однако при наличии тяжелой БА частота ХРС возрастает до 84% [44]. Таким же образом частота БА у больных с ХРС составляет до 42% [45] по сравнению с 4-10% у пациентов без наличия ХРС [46]. Сочетание БА и ХРС взаимно утяжеляют друг друга, повышая частоту обострений и снижая качество жизни больных [47]. Наличие воспаления в пазухах ассоциировано с бронхоконстрикцией, обусловленной рефлексорной модуляцией на уровне глотки, через внегрудные рецепторы [48]. ХРС также сочетается с другими коморбидными патологиями у пациентов с БА, такими как ожирение, ГЭРБ, ХОБЛ, депрессия [49]. В патогенезе обоих заболеваний ведущее зна-

чение принадлежит активации клеток Th2 типа и гиперпродукции таких провоспалительных цитокинов, как интерлейкин-4, интерлейкин-5, интерлейкин-13 [49, 50]. Другим важным фактором, объединяющим оба заболевания, является гиперреактивность дыхательных путей. Попадание аллергена на слизистые оболочки верхних или нижних дыхательных путей может привести к возникновению воспалительной реакции в различных участках дыхательных путей. Таким образом, можно говорить об одном и том же патологическом процессе, протекающем в дыхательных путях, что свидетельствует о единой концепции участия верхних и нижних дыхательных путей в развитии того или иного заболевания. Часть пациентов с ХРС имеют поливалентную аллергическую гиперчувствительность, часто сочетающуюся с атопией. Однако в литературе нет убедительных данных, что атопия является причинным фактором ХРС [51]. Терапия, направленная на снятие воспаления или удаление причинно значимого аллергена, может оказывать положительное влияние как на течение ХРС, так и БА [52, 53]. В этом случае применение биологических лекарственных препаратов на основе моноклональных антител к интерлейкину-4,13 позволяет достигать улучшения контроля в отношении БА и ХРС.

Пациенты с ХРС в анамнезе имеют более высокий риск как возникновения COVID-19, так и его течения [54]. У больных с неаллергической БА возрастает риск заражения SARS-CoV-2, приводящий к более тяжелому течению COVID-19 по сравнению с лицами, не имеющими БА [55]. С другой стороны, у пациентов с БА и эозинофилией крови отмечены более низкие уровни заражения и смертности от НКИ [56]. Такие же данные были продемонстрированы в отношении ХРС, ассоциированного с полипами, когда данный фенотип оказывал протективный эффект в отношении SARS-CoV-2 [57]. По данным Penezić A. и соавторов [58], у больных с ХРС и БА имеют место нарушения восприятия запахов и вкуса, даже при отсутствии полипов в носу, нарушающих носовое дыхание. Обращает на себя внимание и тот факт, что пациенты с такими фенотипами ХРС, как ХРС без назальных полипов, неатопический ХРС и ХРС у больных, получающих интраназальные ГКС, имеют более высокие риски заражения SARS-CoV-2 и более тяжелое течение COVID-19 [54]. При ХРС имеется дисфункция эпителиального барьера, снижение локального иммунитета, что косвенно подтверждается возникновением такого осложнения, как риноорбитальный мукормикоз [59]. Снижение мукоцилиарного клиренса создает благоприятные условия для дальнейшей репликации вирусной инфекции и присоединения вторичной инфекции. Дополнительным фактором является высокая экспрессия ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2), который мак-

симально экспрессирован на слизистой оболочке носа и придаточных пазух по сравнению с другими отделами дыхательной системы [60, 61]. Нарушение врожденной противовирусной защиты, приводящей к локальному снижению выработки интерферонов 1 и 3 типов [62], в дальнейшем усиливает дисбаланс в иммунном ответе, стимулируя чрезмерную продукцию провоспалительных цитокинов, одним из которых является интерферон гамма. Именно у интерферона гамма показано его участие в повышении экспрессии АПФ2 рецепторов [63]. Использование в терапии БА, ХРС моноклональных антител против интерлейкина-4,13 (дупилумаб) снижает тяжесть течения этих заболеваний [64]. Необходимость использования оральных кортикостероидов для лечения ХРС, БА не приводит к утяжелению течения COVID-19 [65, 66] и не является дополнительным фактором риска.

Бронхиальная астма, гастроэзофагиальная рефлюксная болезнь и COVID-19

Частота встречаемости ГЭРБ у пациентов с БА варьирует от 30% до 90% [67-69]. Симптомы ГЭРБ регистрируются у больных БА легкой и средней степени тяжести в 21% случаев, а при тяжелой БА – до 46-63% [10]. Многие пациенты с БА не испытывают классических симптомов ГЭРБ, включающих изжогу, и поэтому имеют асимптомное течение болезни, не позволяющее выставить диагноз в большинстве случаев. ГЭРБ может ухудшать течение БА, непосредственно оказывая влияние на дыхательные пути или через поддержание воспалительного процесса на фоне постоянной микроаспирации. Бронхоконстрикция, обусловленная БА, или медикаментозная терапия могут вызывать и утяжелять гастроэзофагиальный рефлюкс. Назначение больным с тяжелой БА пероральных ГКС повышает риск возникновения рефлюкса и увеличивает продолжительность нахождения соляной кислоты в просвете пищевода [70]. Не только сочетание БА и ГЭРБ встречается часто, но и наличие другой коморбидной патологии, такой как ожирение, описано в литературе как часто встречающееся [71]. Несмотря на то, что на данный момент нет четких доказательств в улучшении контроля над БА при проведении медикаментозной терапии по поводу ГЭРБ [72], есть данные о снижении дозировки лекарственной терапии БА после проведенного адекватного хирургического лечения ГЭРБ [73]. Таким образом, очевидна необходимость лечения пациентов с БА и ГЭРБ при уже имеющихся клинических симптомах, в то время как назначение медикаментозной терапии пациентам с асимптомными формами ГЭРБ не приносит дополнительных преимуществ в отношении контроля как ГЭРБ, так и БА.

В настоящее время в литературе недостаточно

данных о взаимовлиянии ГЭРБ и COVID-19. В исследовании Jimenez L. и соавторов [74] было показано, что снижение pH желудочного сока увеличивает риск инфицирования SARS-CoV-2 за счет активации рецептора АПФ2, что может иметь значение для пациентов с ГЭРБ или пищеводом Барретта. Первой линией терапии ГЭРБ являются ингибиторы протонной помпы (ИПП), а блокаторы H-2 гистаминовых рецепторов несут вспомогательную роль. В работах [75, 76] было показано, что применение ИПП может как увеличивать риск заражения SARS-CoV-2, так и повышать тяжесть течения COVID-19. Однако эти исследования были проведены среди пациентов разных этнических групп (корейцы, американцы) и имеют свои ограничения. У гистаминоблокатора H-2 фамотидина отмечено его противовирусное действие против SARS-CoV-2 [77]. Между тем, есть значительные ограничения касательно фамотидина. Во-первых, связь с вирусными протеазами очень слабая, потому требуется дополнительное применение других препаратов. А во-вторых, необходимый противовирусный эффект может быть достигнут только при внутривенном введении [77].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным литературы можно сделать вывод, что БА часто сочетается с такой коморбидной патологией, как ожирение, СОАС, ХРС, ГЭРБ. Нередко имеется и ассоциация этих заболеваний друг с другом, что утяжеляет состояние пациентов. У больных БА может быть множественная коморбидная составляющая, которая оказывает значимое влияние на течение БА, возникновение частых обострений и прогрессирование заболевания. В то же время наличие сопутствующих заболеваний повышает риски заражения SARS-CoV-2, утяжеляет течение COVID-19, способствует развитию осложнений и неблагоприятных исходов. У пациентов с БА необходимо своевременно выявлять коморбидную патологию, что в условиях пандемии может представлять определенные сложности, а также проводить оптимальную терапию, направленную на достижение ремиссии, чтобы снизить риск заражения SARS-CoV-2, а также минимизировать тяжесть течения COVID-19.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с проведенной публикацией настоящей статьи.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJe (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: создание концепции, редактирование – А.В. Соболев, поиск, анализ материала и написание текста – Н.Ю. Васильев.

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. The concept and design of the study, editing – A.V. Sobolev, collection and processing of material, text writing – N.Y. Vasiliev.

ЛИТЕРАТУРА

1. Reddel H.K., Bacharier L.B., Bateman E.D., et al. Global initiative for asthma strategy 2021: Executive summary and rationale for key changes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2022; 205 (1): 17-35. doi:10.1164/rccm.202109-2205PP
2. Masoli M., Fabian D., Holt S., Beasley R. Global Initiative for Asthma (GINA) Program. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy.* 2004; 59 (5): 469-478. doi:10.1111/j.1398-9995.2004.00526.x
3. Wu T.D., Brigham E.P., McCormack M.C. Asthma in the primary care setting. *Med. Clin. North Am.* 2019; 103 (3): 435-452. doi:10.1016/j.mcna.2018.12.004
4. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [published correction appears in *Lancet.* 2017 Oct 28; 390 (10106):e38]. *Lancet.* 2017; 390 (10100): 1211-1259. doi:10.1016/S0140-6736(17)32154-2
5. Schatz M., Camargo C.A.Jr. The relationship of sex to asthma prevalence, health care utilization, and medications in a large managed care organization. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2003; 91 (6): 553-558. doi:10.1016/S1081-1206(10)61533-5
6. Boulet L.P., Boulay M.È. Asthma-related comorbidities. *Expert. Rev. Respir. Med.* 2011; 5 (3): 377-393. doi:10.1586/ers.11.34
7. Khalid F., Holguin F. A review of obesity and asthma across the life span. *J. Asthma.* 2018; 55 (12): 1286-1300. doi:10.1080/02770903.2018.1424187
8. Peters U., Dixon A.E., Forno E. Obesity and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018; 141 (4): 1169-1179. doi:10.1016/j.jaci.2018.02.004
9. *Adult Obesity Facts.* Overweight & Obesity. CDC. 2016. Available at: <https://www.cdc.gov/obesity/data/adult.html> Access 25.03.2022.
10. Shaw D.E., Sousa A.R., Fowler S.J., et al. Clinical and inflammatory characteristics of the European U-BIOPRED adult severe asthma cohort [published correction appears in *Eur. Respir. J.* 2017 Jun 22;49(6):]. *Eur Respir J.* 2015; 46 (5):1308-1321. doi:10.1183/13993003.00779-2015
11. Moore W.C., Meyers D.A., Wenzel S.E., et al. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2010; 181 (4): 315-323. doi:10.1164/rccm.200906-0896OC
12. Haldar P., Pavord I.D., Shaw D.E., et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 178 (3): 218-224. doi:10.1164/rccm.200711-1754OC
13. Kim T.B., Jang A.S., Kwon H.S., et al. Identification of asthma clusters in two independent Korean adult asthma cohorts. *Eur Respir J.* 2013; 41 (6): 1308-1314. doi:10.1183/09031936.00100811
14. Shore S.A. Obesity and asthma: possible mechanisms. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 121 (5): 1087-1095. doi:10.1016/j.jaci.2008.03.004
15. Aaron S.D., Fergusson D., Dent R., et al. Effect of weight reduction on respiratory function and airway reactivity in obese women. *Chest.* 2004; 125 (6): 2046-2052. doi:10.1378/chest.125.6.2046
16. Maniscalco M., Zedda A., Faraone S., et al. Weight loss and asthma control in severely obese asthmatic females. *Respir Med.* 2008; 102 (1): 102-108. doi:10.1016/j.rmed.2007.07.029
17. Eneli I.U., Skybo T., Camargo C.A.Jr. Weight loss and asthma: a systematic review. *Thorax.* 2008; 63 (8): 671-676. doi:10.1136/thx.2007.086470
18. Farah C.S., Kermodie J.A., Downie S.R., et al. Obesity is a determinant of asthma control independent of inflammation and lung mechanics. *Chest.* 2011; 140 (3): 659-666. doi:10.1378/chest.11-0027
19. Mosen D.M., Schatz M., Magid D.J., Camargo C.A.Jr. The relationship between obesity and asthma severity and control in adults. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122 (3): 507-11.e6. doi:10.1016/j.jaci.2008.06.024

20. Lv N., Xiao L., Camargo C.A.Jr, et al. Abdominal and general adiposity and level of asthma control in adults with uncontrolled asthma. *Ann Am. Thorac. Soc.* 2014; 11 (8): 1218-1224. doi:10.1513/AnnalsATS.201405-214OC
21. Sandoval M., Nguyen D.T., Vahidy F.S., Graviss E.A. Risk factors for severity of COVID-19 in hospital patients age 18-29 years. *PLoS One.* 2021; 16 (7): e0255544. doi:10.1371/journal.pone.0255544
22. Garg S., Kim L., Whitaker M., et al. Hospitalization rates and characteristics of patients hospitalized with laboratory-confirmed coronavirus disease 2019 - COVID-NET, 14 States, March 1-30, 2020. *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 2020; 69 (15): 458-464. doi:10.15585/mmwr.mm6915e3
23. Hussain A., Mahawar K., Xia Z., et al. Obesity and mortality of COVID-19. Meta-analysis. *Obes. Res. Clin. Pract.* 2021; 15 (1): 100. doi:10.1016/j.orcp.2020.12.008
24. Popkin B.M., Du S., Green W.D., et al. Individuals with obesity and COVID-19: A global perspective on the epidemiology and biological relationships [published correction appears in *Obes. Rev.* 2021; 22 (10): e13305]. *Obes Rev.* 2020; 21 (11):e13128. doi:10.1111/obr.13128
25. Hussein M.H., Toraih E.A., Attia A.S., et al. Asthma in COVID-19 patients: An extra chain fitting around the neck? *Respir. Med.* 2020; 175: 106205. doi:10.1016/j.rmed.2020.106205
26. Anderson M.R., Geleris J., Anderson D.R., et al. Body mass index and risk for intubation or death in SARS-CoV-2 Infection: a retrospective cohort study. *Ann Intern Med.* 2020; 173 (10): 782-790. doi:10.7326/M20-3214
27. Caci G., Albini A., Malerba M., et al. COVID-19 and obesity: dangerous liaisons. *J. Clin. Med.* 2020; 9 (8): 2511. doi:10.3390/jcm9082511
28. Yigla M., Tov N., Solomonov A., et al. Difficult-to-control asthma and obstructive sleep apnea. *J. Asthma.* 2003; 40 (8): 865-871. doi:10.1081/jas-120023577
29. Julien J.Y., Martin J.G., Ernst P., et al. Prevalence of obstructive sleep apnea-hypopnea in severe versus moderate asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 124 (2): 371-376. doi:10.1016/j.jaci.2009.05.016
30. Kong D.L., Qin Z., Shen H., et al. Association of obstructive sleep apnea with asthma: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2017; 7 (1): 4088. doi:10.1038/s41598-017-04446-6
31. Min Y.Z., Subbarao P., Narang I. The bidirectional relationship between asthma and obstructive sleep apnea: which came first? *J. Pediatr.* 2016; 176: 10-16. doi:10.1016/j.jpeds.2016.05.058
32. Prasad B., Nyenhuis S.M., Weaver T.E. Obstructive sleep apnea and asthma: associations and treatment implications. *Sleep Med Rev.* 2014; 18 (2): 165-171. doi:10.1016/j.smrv.2013.04.004
33. Simpson L., Hillman D.R., Cooper M.N., et al. High prevalence of undiagnosed obstructive sleep apnoea in the general population and methods for screening for representative controls. *Sleep Breath.* 2013; 17 (3): 967-973. doi:10.1007/s11325-012-0785-0
34. Teodorescu M., Broytman O., Curran-Everett D., et al. Obstructive sleep apnea risk, asthma burden, and lower airway inflammation in adults in the Severe Asthma Research Program (SARP) II. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2015; 3 (4): 566-75.e1. doi:10.1016/j.jaip.2015.04.002
35. Lafond C., Sériès F., Lemièrre C. Impact of CPAP on asthmatic patients with obstructive sleep apnoea. *Eur. Respir. J.* 2007; 29 (2): 307-311. doi:10.1183/09031936.00059706
36. Simard B., Turcotte H., Marceau P., et al. Asthma and sleep apnea in patients with morbid obesity: outcome after bariatric surgery. *Obes. Surg.* 2004; 14 (10): 1381-1388. doi:10.1381/0960892042584021
37. Valverde-Monge M., Cañas J.A., Barroso B., et al. Eosinophils and chronic respiratory diseases in hospitalized COVID-19 patients. *Front Immunol.* 2021; 12: 668074. doi:10.3389/fimmu.2021.668074
38. McSharry D., Malhotra A. Potential influences of obstructive sleep apnea and obesity on COVID-19 severity. *J. Clin. Sleep Med.* 2020; 16 (9): 1645. doi:10.5664/jcsm.8538
39. Owens R.L., Macrea M.M., Teodorescu M. The overlaps of asthma or COPD with OSA: A focused review. *Respirology.* 2017; 22 (6): 1073-1083. doi:10.1111/resp.13107
40. Tufik S., Gozal D., Ishikura I.A., et al. Does obstructive sleep apnea lead to increased risk of COVID-19 infection and severity? *J. Clin. Sleep Med.* 2020; 16 (8): 1425-1426. doi:10.5664/jcsm.8596
41. Duarte R.L., Magalhães-da-Silveira F.J., Oliveira-E-Sá T.S., et al. Obstructive sleep apnea screening with a 4-item instrument, named GOAL Questionnaire: development, validation and comparative study with No-Apnea, STOP-Bang, and NoSAS. *Nat. Sci. Sleep.* 2020; 12: 57-67. doi:10.2147/NSS.S238255
42. Kar A., Saxena K., Goyal A., et al. Assessment of obstructive sleep apnea in association with severity of COVID-19: a prospective observational study. *Sleep Vigil.* 2021; 5 (1): 111-118. doi:10.1007/s41782-021-00142-8
43. Bresciani M., Paradis L., Des Roches A., et al. Rhinosinusitis in severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 107 (1): 73-80. doi:10.1067/mai.2001.111593
44. ten Brinke A., Grootendorst D.C., Schmidt J.T., et al. Chronic sinusitis in severe asthma is related to sputum eosinophilia. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002; 109 (4): 621-626. doi:10.1067/mai.2002.122458
45. Seybt M.W., McMains K.C., Kountakis S.E. The prevalence and effect of asthma on adults with chronic

- rhinosinusitis. *Ear Nose Throat. J.* 2007; 86 (7): 409-411. PMID: 17702323
46. *Manfreda J., Becklake M.R., Sears M.R., et al.* Prevalence of asthma symptoms among adults aged 20-44 years in Canada. *CMAJ.* 2001; 164 (7): 995-1001. PMID: 11314453
47. *Denlinger L.C., Phillips B.R., Ramratnam S., et al.* Inflammatory and comorbid features of patients with severe asthma and frequent exacerbations [published correction appears in *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2018; 197 (7): 971]. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 195 (3): 302-313. doi:10.1164/rccm.201602-0419OC
48. *Bucca C., Rolla G., Scappaticci E., et al.* Extrathoracic and intrathoracic airway responsiveness in sinusitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995; 95 (1 Pt 1): 52-59. doi:10.1016/s0091-6749(95)70152-4
49. *Chung S.D., Chen P.Y., Lin H.C., Hung S.H.* Comorbidity profile of chronic rhinosinusitis: a population-based study. *Laryngoscope.* 2014; 124 (7):1536-1541. doi:10.1002/lary.24581
50. *Coverstone A.M., Seibold M.A., Peters M.C.* Diagnosis and management of T2-high asthma. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2020; 8 (2): 442-450. doi:10.1016/j.jaip.2019.11.020
51. *Rosati M.G., Peters A.T.* Relationships among allergic rhinitis, asthma, and chronic rhinosinusitis. *Am. J. Rhinol. Allergy.* 2016; 30 (1): 44-47. doi:10.2500/ajra.2016.30.4252
52. *Vashishta R., Soler Z.M., Nguyen S.A., Schlosser R.J.* A systematic review and meta-analysis of asthma outcomes following endoscopic sinus surgery for chronic rhinosinusitis. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2013; 3 (10): 788-794. doi:10.1002/alr.21182
53. *Rix I., Håkansson K., Larsen C.G., et al.* Management of chronic rhinosinusitis with nasal polyps and coexisting asthma: A systematic review. *Am. J. Rhinol. Allergy.* 2015; 29 (3): 193-201. doi:10.2500/ajra.2015.29.4178
54. *Lee S.W., Kim S.Y., Moon S.Y., et al.* Estimating COVID-19 infection and severity risks in patients with chronic rhinosinusitis: a Korean nationwide cohort study. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2021; 9 (6): 2262-2271.e2. doi:10.1016/j.jaip.2021.03.044
55. *Yang J.M., Koh H.Y., Moon S.Y., et al.* Allergic disorders and susceptibility to and severity of COVID-19: A nationwide cohort study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020; 146 (4): 790-798. doi:10.1016/j.jaci.2020.08.008
56. *Ferastraoaru D., Hudes G., Jerschow E., et al.* Eosinophilia in Asthma Patients Is Protective Against Severe COVID-19 Illness. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2021; 9 (3): 1152-1162.e3. doi:10.1016/j.jaip.2020.12.045
57. *Marin C., Tubita V., Langdon C., et al.* ACE2 downregulation in olfactory mucosa: Eosinophilic rhinosinusitis as COVID-19 protective factor? *Allergy.* 2021; 76 (9): 2904-2907. doi:10.1111/all.14904
58. *Penezić A., Paić M., Gregurić T., et al.* The impact of asthma on quality of life and symptoms in patients with chronic rhinosinusitis. *Curr. Med. Res. Opin.* 2020; 36 (6): 1043-1048. doi:10.1080/03007995.2020.1754189
59. *Thakar A., Lal D.* "Black fungus": a perspective on the coronavirus disease 2019 (COVID-19)-associated rhino-orbital mucormycosis epidemic in India. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2021; 11 (8): 1278-1279. doi:10.1002/alr.22855
60. *Sungnak W., Huang N., Bécavin C., et al.* SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med.* 2020; 26 (5): 681-687. doi:10.1038/s41591-020-0868-6
61. *Hou Y.J., Okuda K., Edwards C.E., et al.* SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. *Cell.* 2020; 182 (2): 429-446.e14. doi:10.1016/j.cell.2020.05.042
62. *Hwang J.W., Lee K.J., Choi I.H., et al.* Decreased expression of type I (IFN- β) and type III (IFN- λ) interferons and interferon-stimulated genes in patients with chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019; 144 (6): 1551-1565.e2. doi:10.1016/j.jaci.2019.08.010
63. *Ziegler C.G.K., Allon S.J., Nyquist S.K., et al.* SARS-CoV-2 receptor ACE2 Is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell.* 2020; 181 (5): 1016-1035.e19. doi:10.1016/j.cell.2020.04.035
64. *Förster-Ruhrmann U., Szczepek A.J., Bachert C., Olze H.* COVID-19 in a patient with severe chronic rhinosinusitis with nasal polyps during therapy with dupilumab. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020; 146 (1): 218-220.e2. doi:10.1016/j.jaci.2020.05.005
65. *Miller L.E., Bhattacharyya N.* Risk of COVID-19 infection among chronic rhinosinusitis patients receiving oral corticosteroids. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2022; 166 (1): 183-185. doi:10.1177/01945998211006931
66. *Hasan S.S., Capstick T., Zaidi S.T.R., et al.* Use of corticosteroids in asthma and COPD patients with or without COVID-19. *Respir Med.* 2020; 170: 106045. doi:10.1016/j.rmed.2020.106045
67. *Havemann B.D., Henderson C.A., El-Serag H.B.* The association between gastro-oesophageal reflux disease and asthma: a systematic review. *Gut.* 2007; 56 (12):1654-1664. doi:10.1136/gut.2007.122465
68. *Sontag S.J., O'Connell S., Khandelwal S., et al.* Asthmatics with gastroesophageal reflux: long term results of a randomized trial of medical and surgical antireflux therapies. *Am. J. Gastroenterol.* 2003; 98 (5): 987-999. doi:10.1111/j.1572-0241.2003.07503.x
69. *Tsai M.C., Lin H.L., Lin C.C., et al.* Increased risk of concurrent asthma among patients with gastroesophageal reflux disease: a nationwide population-based study. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2010; 22 (10): 1169-1173.

doi:10.1097/MEG.0b013e32833fb68c

70. *Lazenby J.P., Guzzo M.R., Harding S.M., et al.* Oral corticosteroids increase esophageal acid contact times in patients with stable asthma. *Chest.* 2002; 121 (2): 625-634. doi:10.1378/chest.121.2.625
71. *Althoff M.D., Ghincea A., Wood L.G., et al.* Asthma and three colinear comorbidities: Obesity, OSA, and GERD. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2021; 9 (11): 3877-3884. doi:10.1016/j.jaip.2021.09.003
72. *Gibson P.G., Henry R.L., Coughlan J.L.* Gastro-oesophageal reflux treatment for asthma in adults and children. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2003; (2):CD001496. doi:10.1002/14651858.CD001496
73. *Larrain A., Carrasco E., Galleguillos F., et al.* Medical and surgical treatment of nonallergic asthma associated with gastroesophageal reflux. *Chest.* 1991; 99 (6): 1330-1335. doi:10.1378/chest.99.6.1330
74. *Jimenez L., Campos Codo A., Sampaio V.S., et al.* Acid pH Increases SARS-CoV-2 infection and the risk of death by COVID-19. *Front Med (Lausanne).* 2021; 8: 637885. doi:10.3389/fmed.2021.637885
75. *Lee S.W., Ha E.K., Yeniova A.Ö., et al.* Severe clinical outcomes of COVID-19 associated with proton pump inhibitors: a nationwide cohort study with propensity score matching. *Gut.* 2021; 70 (1): 76-84. doi:10.1136/gutjnl-2020-322248
76. *Altario C.V., Chey W.D., Spiegel B.M.R.* Increased Risk of COVID-19 Among Users of Proton Pump Inhibitors. *Am. J. Gastroenterol.* 2020; 115 (10): 1707-1715. doi:10.14309/ajg.0000000000000798
77. *Ortega J.T., Serrano M.L., Jastrzebska B.* Class a gprotein-coupled receptor antagonist famotidineasa therapeutic alternative against SARS-CoV2: an in silico analysis. *Biomolecules.* 2020; 10 (6): 954. doi:10.3390/biom10060954

Поступила в редакцию журнала 14.04.2022

Рецензент: Н.Н. Климко

ПЕРВОЕ ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ МУКОРМИКОЗА ОКОЛОНОСОВЫХ ПАЗУХ В ПЕРМСКОМ КРАЕ

¹Чарушин А.О. (доцент)*, ²Хостелиди С.Н. (доцент), ³Боровинский Р.И. (врач-патологоанатом, зав. отд.), ⁴Чарушина И.П. (главный врач), ¹Еловиков А.М. (зав. кафедрой, доцент), ²Авдеенко Ю.Л. (с.н.с.), ²Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

¹Пермский государственный медицинский университет, Пермь; ²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург; ³Пермская краевая клиническая больница, Пермь; ⁴Пермская краевая клиническая инфекционная больница, Пермь, Россия

Представлено первое описание клинического случая мукоормикоза околоносовых пазух в Пермском крае. Заболевание развилось на фоне декомпенсированного сахарного диабета, характеризовалось деструкцией стенок левой верхнечелюстной пазухи, решетчатого лабиринта, скуловой кости слева. Проводили дифференциальную диагностику со злокачественным новообразованием. Диагноз мукоормикоз установили на основании критериев ECMM/MSGERC, 2020. Провели хирургическое лечение и антимикотическую терапию позаконазолом, а также местную терапию с положительным эффектом.

Ключевые слова: мукоормикоз околоносовых пазух, риноцеребральный мукоормикоз, грибковые инфекции, сахарный диабет, позаконазол

THE FIRST CLINICAL CASE OF INVASIVE MUCORMICOSIS OF THE PARANASAL SINS IN THE PERM REGION

¹Charushin A.O. (associate professor), ²Khostelidi S.N. (associate professor), ³Borovinsky R.I. (pathologist, head of the clinical department), ⁴Charushina I.P. (chief doctor), ¹Elovikov A.M. (head of the department, associate professor), ²Avdeenko Y.L. (senior scientific researcher), ²Klimko N.N. (head of the department)

¹Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm; ²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg; ³Perm Regional Clinical Hospital, Perm; ⁴Perm Regional Clinical Infectious Diseases Hospital, Perm, Russia

* Контактное лицо: Чарушин Артём Олегович,
e-mail: art-charushin@yandex.ru

The description of the first clinical case of invasive mucormycosis of the paranasal sinuses in the Perm Region is presented. The disease developed against the background of decompensated diabetes, characterized by the destruction of the walls of the left maxillary sinus, the ethmoid labyrinth, the zygomatic bone on the left. Conducted differential diagnosis with malignant neoplasm. The diagnosis of mucormycosis was established based on the ECMM/MSGERC, 2020 criteria. Surgical treatment and antimycotic therapy with posaconazole, as well as topical therapy, were performed. The patient was discharged in a satisfactory condition.

Key words: invasive mucormycosis of the paranasal sinuses, rhinocerebral mucormycosis, fungal infections, diabetes, posaconazole

ВВЕДЕНИЕ

Мукоормикоз околоносовых пазух (ОНП) – это редкое тяжёлое заболевание, которое развивается преимущественно у иммунокомпрометированных пациентов. Одна из наиболее частых форм заболевания – поражение придаточных пазух носа, характеризующееся поражением не только слизистой оболочки, но и деструкцией костных стенок, и, как следствие, вовлечением в патологический процесс альвеолярного отростка верхней челюсти, твёрдого нёба, тканей орбиты, оболочек и вещества головного мозга [1, 2]. Мукоормикоз развивается у больных с факторами риска, основными из которых являются онкогематологические заболевания и сахарный диабет [3, 4]. Заболевание характеризуется быстрым прогрессированием и крайне высокой летальностью (до 80%) [4, 5]. Успех лечения определяется ранним назначением антимикотической терапии в сочетании с хирургическим удалением патологически изменённых тканей и коррекцией факторов риска [2, 6].

В время пандемии COVID-19 отмечен значительный рост числа новых случаев мукоормикоза различных локализаций, в том числе и ОНП [5, 7]. Зарегистрированные случаи инфицирования «чёрным грибом» в Российской Федерации вызывают повышенный интерес медицинского сообщества и средств массовой информации. Современные реалии требуют от оториноларингологов и врачей других специальностей повышенной настороженности в отношении возможного развития мукоормикоза у больного с факторами риска.

В статье представлено описание клинического случая мукоормикоза ОНП, впервые выявленного на территории Пермского края.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диагноз мукоормикоза установлен на основании критериев диагностики микозов ECMM/MSGERC, 2020 [8].

Микологическое исследование биоматериалов.
Микроскопическое исследование отделяемого

верхнечелюстной пазухи (ВЧП) проводили с использованием окрашивания по Романовскому-Гимзе. Посев содержимого ВЧП осуществляли на агаризованную среду Сабуро с добавлением левомицетина и инкубировали при температуре 28 °С и 35 °С в течение 14 дней в микробиологической лаборатории Пермской краевой клинической инфекционной больницы. Патогистологическое исследование интраоперационного материала выполняли в лаборатории Пермской краевой клинической больницы с применением параллельного окрашивания гематоксилин-эозином, шифф-йодной кислотой (PAS-метод) и импрегнацией серебром (по Грокотту). Консультирование гистологических препаратов осуществляли специалисты НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СЗГМУ им. И.И. Мечникова (Санкт-Петербург).

Описание клинического случая

Пациентка Г., 68 лет, была госпитализирована в оториноларингологическое отделение ПМКБ 20.12.21 г. в плановом порядке с целью оперативного лечения. При поступлении предъявляла жалобы на чувство онемения, а также дискомфорт в левой щёчной и подглазничной областях, в области ската носа слева; чувство инородного тела в области верхней челюсти слева; боли в лобной области и области корня носа; слёзотечение из левого глаза.

Анамнез заболевания. Считает себя больной с июня 2021 г., когда внезапно появились боли в левой половине лица. 11.06.21 г. во время острого приступа боли пациентка бригадой скорой медицинской помощи была доставлена в стационар. При обследовании в приёмном отделении городской больницы выполнена компьютерная томография (КТ) головного мозга с целью исключения острого нарушения мозгового кровообращения. На КТ были выявлены изменения со стороны околоносовых пазух слева и рекомендована консультация ЛОР-врача по месту жительства. Далее женщина лечилась амбулаторно у оториноларинголога, получала системную и местную антибактериальную терапию (названия препаратов не помнит) – без положительного эффекта. Головные боли нарастали.

С 21.06.21 г. по 26.06.21 г. больная находилась на стационарном лечении в оториноларингологическом отделении Пермского клинического центра Федерального медико-биологического агентства (ПКЦ ФМБА). При пункции левой верхнечелюстной пазухи (ВЧП) было получено незначительное слизистое отделяемое. Пациентке назначен повторный курс антибактериальной терапии (цефтриаксон – 2 г в сутки внутривенно). 26.06.21 г. ухудшение состояния: появился нарастающий отек щёчной и подглазничной областей слева с формированием инфильтрата у левого ската носа, отек век левого глаза. По экстренным показаниям больная переведена в Клиниче-

скую стоматологическую больницу, где челюстно-лицевым хирургом было выполнено вскрытие абсцесса подглазничной области слева. Через 7 дней пациентка выписана с улучшением (гнойное воспаление разрешилось), но головные боли и онемение в левой половине лица сохранялись.

В июле 2021 г. головные боли усилились, в связи с чем больная была повторно госпитализирована в стационар на отделение оториноларингологии ПКЦ ФМБА с диагнозом «остеомиелит верхней челюсти слева». Пациентка получала антибактериальную терапию (ципрофлоксацин – 200 мг 2 раза в сутки внутривенно, метронидазол – 500 мг 2 раза в сутки внутривенно). С диагностической и лечебной целью ежедневно проводили промывание ВЧП слева через дренаж раствором 1% диоксида. Терапия дала положительный эффект в виде уменьшения болевого синдрома. В связи с тем, что было заподозрено злокачественное образование ОНП, было рекомендовано плановое оперативное лечение.

Анамнез жизни. Пациентка более 20 лет страдает сахарным диабетом 2 типа, в течение двух лет получает инсулин. Со слов, принимает инсулин НПХ (по 10 ЕД 2 раза в сутки), иногда самостоятельно пропускает первую инъекцию. Контроль уровня гликемии и введение препарата самостоятельные, нерегулярные (уровень гликемии и гликогемоглобина А1с венозной крови от 24.11.21 г. – 12,86 ммоль/л и 13,2% соответственно). Получает лечение по поводу гипертонической болезни III ст., 3 ст. по АД, риск 4. (лозартан – 50 мг 2 раза в сутки внутрь). Перенесла острое нарушение мозгового кровообращения в 2018 г. Вакцинирована препаратом «Гам-КОВИД-Вак» полностью 12.02.21 г., COVID-19 в анамнезе отрицает.

Объективно при поступлении. Общее состояние удовлетворительное. Пациентка нормостенического телосложения. Кожные покровы розовые, сыпи нет. Лимфатические узлы не увеличены. Температура тела – 36,5 °С; артериальное давление – 145/90 мм рт.ст.; частота сердечных сокращений – 76 в минуту. Аускультативно: тоны сердца ясные, ритмичные; над легочными полями дыхание везикулярное, проводится во все отделы. Выражены когнитивные нарушения, память снижена.

Оториноларингологический статус. Мягкие ткани в проекции ОНП физиологической окраски, пальпация-перкуссия костных стенок безболезненные. В области левого ската носа с переходом на подглазничную область – рубец (вскрытие абсцесса – 26.06.21 г.). В наружной части щёчной области слева наблюдали образование звёздчатой формы – свищ, из которого пациентка отмечала периодическое отхождение отделяемого при надавливании (Рис. 1). На момент осмотра отделяемого нет. Движения глазного яблока слева сохранены в полном объеме, болезнен-

ности нет.



Рис. 1. Свищ в левой щечной области с рубцовыми изменениями.

Носовое дыхание удовлетворительное. Слизистая оболочка полости носа с синюшным оттенком, умеренно отёчна. Слева на носовой перегородке, по общему носовому ходу, дну носа – слизь. Средний носовой ход слева обзорим, отделяемого нет.

При орорезофарингоскопии воспалительных изменений не выявлено. Слизистая оболочка полости рта и глотки розовая, налётов нет. Отоскопическая картина соответствует норме, признаки хронической двусторонней нейросенсорной тугоухости I ст.

В клиническом анализе крови от 06.12.21: лейкоциты – $7,3 \times 10^9/\text{л}$ (сегментоядерные нейтрофилы – 61%, палочкоядерные – 1%, лимфоциты – 26%, моноциты – 11%), эритроциты – $5,3 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобин – 137 г/л, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – 18 мм/час. Общий анализ мочи: цвет светло-желтый, реакция кислая, удельный вес – 1030 г/л, белок – 0,08 г/л, присутствуют кетоновые тела и глюкоза.

В биохимическом анализе крови от 06.12.21 г.: аланинаминотрансфераза (АЛаТ) – 32 МЕ/л, аспаратаминотрансфераза (АСаТ) – 28 МЕ/л, креатинин – 105 мкмоль/л, мочевины – 6,8 ммоль/л, общий белок – 65 г/л, глюкоза – 10,2 ммоль/л.

На компьютерной томографии ОНП от 21.11.21 г. определяются признаки гемисинусита слева, с преимущественными изменениями по типу выраженно-го пристеночного отёка слизистой оболочки в ВЧП, передних клетках решетчатого лабиринта, нижних отделов лобной пазухи. Задние ячейки решетчатого лабиринта, основная пазуха слева пневматизированы. Выявлены значимые дефекты передней, верхней (в области скулоорбитального комплекса) и медиальной стенок левой ВЧП (Рис. 2).

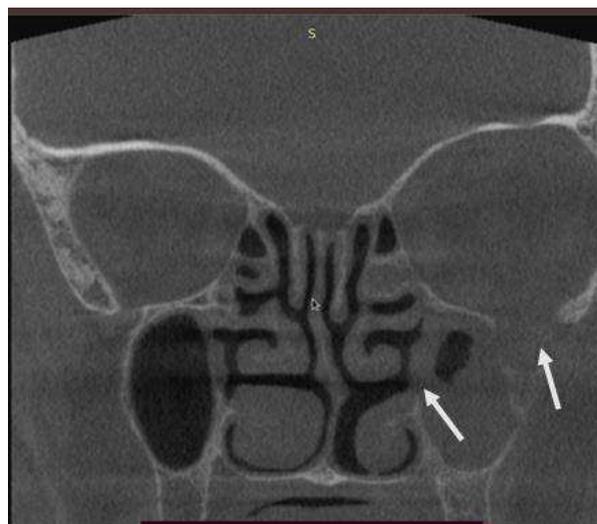


Рис. 2. Множественные костные дефекты (указаны стрелками) стенок левой ВЧП и скулоорбитального комплекса (КТ ОНП от 21.11.21 г.)

На рентгенограмме органов грудной клетки патологических изменений не выявлено.

С учетом полученных данных был выставлен диагноз: Хронический гемисинусит слева, ухудшение. Новообразование ОНП слева? Инвазивный микоз ОНП слева?

В день поступления пациентке была выполнена пункция левой ВЧП. Костная стенка мягкая. При попытке аспирации содержимое не получили. Пазуха была промыта 20 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Жидкость вытекала из пазухи свободно, мутная, без запаха, с мелкими белесоватыми чешуйками. При посеве промывных вод придаточных пазух носа роста плесневых микромицетов не было.

21.12.21 была проведена гайморотомия слева (доступ классический, через клыковую ямку). Интраоперационно выявили: дефект передней стенки ВЧП в области клыковой ямки – 1,5 на 1 см, с зубчатыми размягченными краями. В просвете наблюдали слежавшиеся гнойные сгустки с невыраженным гнилостным запахом. Все стенки пазухи выстланы резко утолщенной бугристой бледно-розовой, плотноватой, полипозно измененной слизистой оболочкой. В задне-внутреннем отделе и расширенной решетчатой бухте обнаружены серо-жёлтые, тяжисто-пленчатые, эластической консистенции, плотно прилегающие к стенкам, с трудом отделяющиеся щипцами массы. Кровопотеря при их удалении была незначительная. Выявлен значительный дефект медиальной стенки левой ВЧП. Края дефекта орбитальной и нижней стенок пазухи в наружном отделе не визуализировались, т.к. были прикрыты конгломератом плотной слизистой оболочки и рубцовой ткани. Патологически измененные ткани были удалены и направлены на патогистологическое исследование. В типичном месте наложена антростома.

Из фрагментов удаленных тканей был получен

обильный рост *Staphylococcus aureus* 10^5 КОЕ/мл и *Candida albicans* 10^5 КОЕ/мл. Роста плесневых грибов нет.

Результат гистологического исследования (24.12.21 г.): в предоставленном материале обнаружены фрагменты широкого, несептированного, делящегося под прямым углом, мицелия, сходного с мукоромицетами (Рис. 3).

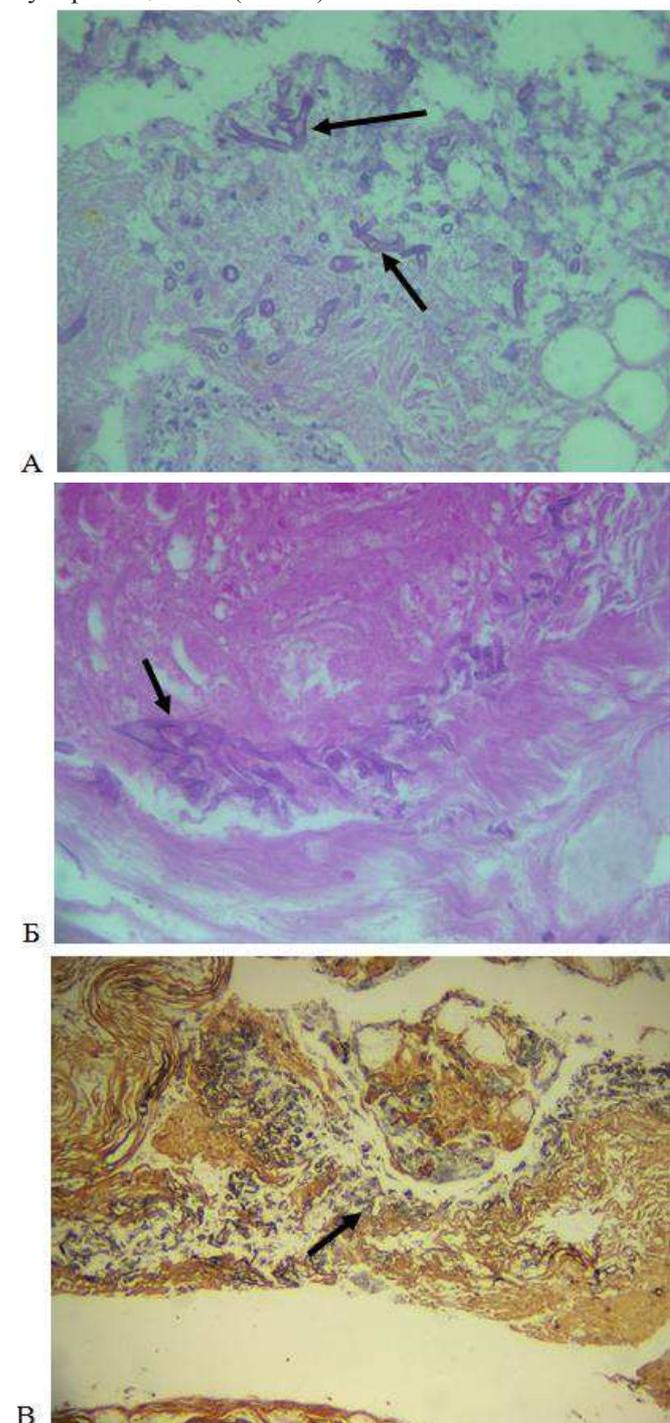


Рис. 3. Фрагменты широкого несептированного мицелия (указаны стрелками), ветвящегося под прямым углом, в интраоперационном материале верхнечелюстной пазухи: А – PAS, увеличение $\times 400$; Б – гематоксилин-эозин, увеличение $\times 400$; В – импрегнация серебром (по Грокотту), увеличение $\times 200$.

25.12.21 г. проведена удаленная консультация пациентки сотрудниками кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова. Был рекомендован пересмотр гистологических препаратов в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина. При подтверждении диагноза в послеоперационном периоде больной рекомендовано начать приём позаконазола в суспензии по 400 мг 2 раза в сутки или изавуконазол в стандартных дозах.

Послеоперационный период протекал без осложнений. Проводили ежедневный туалет полости носа слева, туширование швов под губой раствором Люголя. Швы были удалены на 7 сутки после операции. Левую ВЧП промывали через антростому под местной анестезией раствором амфотерицина В дезоксихолатом (24.12.21 г., 27.12.21 г. и 28.12.21 г.). 27.12.21 г. гистологические препараты были направлены в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СЗГМУ им. И.И. Мечникова (г. Санкт-Петербург) для пересмотра.

Через 8 дней от начала госпитализации: отделяемого из носа слева нет, нормотермия. Мягкие ткани лица физиологической окраски, слегка более розовые в левой щечной области, на крыле носа слева. Пациентка отмечала сохраняющееся онемение тканей в левой щечной области, крыле носа слева, в области верхней челюсти слева. Стойкие головные боли купированы. Некротических изменений мягких тканей лица слева, слизистой оболочки полости носа слева нет. Была скорректирована инсулинотерапия, согласно рекомендациям эндокринолога назначен препарат короткого действия по схеме 14 ЕД – 10 ЕД – 6 ЕД. Уровень гликемии при выписке – 5,6 ммоль/л.

28.12.21 г. пациентку выписали под амбулаторное наблюдение оториноларинголога в удовлетворительном состоянии.

Согласно заключению лаборатории патоморфологии и цитологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина инвазивный мукормикоз придаточных пазух носа был подтвержден.

Таким образом, на основании наличия у больной факторов риска (сахарный диабет 2 типа, диабетический кетоацидоз), клинических и лабораторных данных, а также данных КТ-исследования, был выставлен диагноз: инвазивный мукормикоз придаточных пазух носа (верхнечелюстной, решетчатых, лобной), с костно-деструктивными изменениями скуловой кости слева; состояние после гайморотомии слева от 21.12.21 г. Сопутствующий: сахарный диабет, 2 тип, истинная полицитемия (ИП), декомпенсация; гипертоническая болезнь (ГБ) III ст., риск 4; цереброваскулярная болезнь (ЦВБ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) (2018 г.); целевой Hb A1c менее 7,5%; диабетическая поли-

нейропатия; многоузловой зоб 1 ст.; эутиреоз.

Через месяц после оперативного лечения общее состояние пациентки удовлетворительное. Больная продолжала получать рекомендованную антимикотическую терапию позаконазолом в суточной дозе 800 мг. По результатам КТ головного мозга и лёгких патологических признаков не выявлено. На КТ ОНП от 18.01.22 г. положительная рентгенологическая динамика: левая ВЧП и передние клетки решетчатого лабиринта более пневматизированы, свободный объем ВЧП стал больше, естественное соустье проходимо. (Рис. 4).

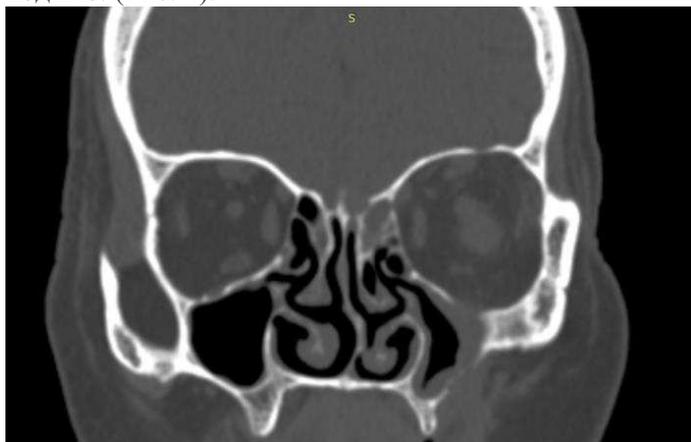


Рис. 4. Положительная рентгенологическая динамика, по данным КТ ОНП от 18.01.22 г.: левая ВЧП пневматизирована, естественное соустье проходимо.

Проведён поиск сообщений об инвазивном мукормикозе (или зигомикозе) ОНП в Пермском крае РФ в национальной системе РИНЦ и базе данных PubMed. Публикаций, посвящённых микозу в регионе, не найдено. Наша статья – это первое описание подтвержденного случая заболевания на территории Пермского края.

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленный клинический случай подчеркивает необходимость при наличии костно-деструктивного процесса в ОНП у пациента с факторами риска исключать не только злокачественное опухолевое поражение, но специфические воспалительные заболевания, в том числе мукормикоз. Известно, что у лиц с декомпенсированным сахарным диабетом наиболее часто развивается риноцеребральная форма мукормикоза [1]. Для больных с фоновой гематологической патологией более характерно поражение легких [1, 7]. У нашей пациентки мукормикоз придаточных пазух носа также развился на фоне сахарного диабета и кетоацидоза.

По данным литературы, мукормикоз характеризуется быстро прогрессирующим агрессивным тяжёлым течением и без специфического лечения в большинстве случаев заканчивается летальным исходом [1, 3, 5, 7]. У нашей больной мы наблюдали медленнотекущий, хронический характер заболева-

ния: с момента появления первых жалоб на головные боли и боли в области ВЧП слева до момента постановки диагноза прошло около 7 месяцев. Пациентка поступила в ЛОР отделение для планового оперативного лечения. Возможно, такой характер заболевания формировался в результате постепенного нарастания декомпенсации сахарного диабета, что обусловлено в том числе и снижением доступности плановой амбулаторной помощи в период пандемии COVID-19.

Диагноз «мукормикоз ОНП» сложен для постановки [9]. Мы не смогли выделить мукоромицеты в культуре, при посевах на среду Сабуро, из промывной жидкости ОНП, а также фрагментов интраоперационного материала. Микроскопическое исследование биосубстратов также не дало диагностического ответа. Мукормикоз был подтвержден только при гистологическом исследовании с использованием специфических окрасок.

Согласно международным рекомендациям ЕСММ/MSGERC, для эффективного лечения мукормикоза требуется как можно более раннее назначение антимикотических препаратов, хирургическое удаление пораженных тканей и коррекция факторов риска [6]. Для стартового лечения рекомендован липосомальный амфотерицин В в суточной дозе 5-10 мг/кг (уровень рекомендаций А II) или липидный комплекс амфотерицина В (В II). В качестве препаратов, рекомендуемых при переходе с парентеральной на пероральную терапию, используют изавуконазол (А II) и позаконазол (В II) таблетки или суспензию для приёма внутрь (С II) [6, 10].

Нашей пациентке мы проводили местную терапию (неоднократные промывания ОНП антимикотиками), хирургическое лечение и специфическую антимикотическую терапию позаконазолом. Общий период антимикотической терапии на февраль 2022 г. составил 37 дней.

В настоящее время мы наблюдаем увеличение количества случаев мукормикоза различных локализаций в мире и РФ [2, 5]. Это объясняется пандемией COVID-19, тяжёлой иммуносупрессией пациентов, связанной с назначением глюкокортикостероидной и генно-инженерной терапии. Во временных методических рекомендациях по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции есть раздел, посвященный диагностике и лечению мукормикоза [11].

Продемонстрированный клинический случай подчеркивает важность настороженности в отношении возможного развития мукормикоза ОНП у пациентов с декомпенсированным сахарным диабетом, особенно в условиях пандемии COVID-19 [1].

ЛИТЕРАТУРА

1. *Климко Н.Н.* Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей. 3-е изд. Перераб. и доп. М.: Фармтек, 2017; 272 с. [Klimko N.N. Mycoses: diagnosis and treatment. A guide for doctors. 3rd ed. M.: Farmtek, 2017; 272 p. (In Russ)].
2. *Garg D., Muthu V., Sehgal I.S., et al.* Coronavirus Disease (Covid19) Associated Mucormycosis (CAM): case report and systematic review of literature. *Mycopathologia*. 2021;110. doi: 10.1007/s11046021005282
3. *Долгов О.И., Попова М.О., Карпищенко С.А. и др.* Случай успешного лечения мукормикоза околоносовых пазух перед аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. *Российский медицинский журнал*. 2021; 29 (4): 59-62. [Dolgov O.I., Popova M.O., Karpishchenko S.A., et al. Case of successful treatment of mucormycosis of the paranasal sinuses before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Russian Medical Journal*. 2021; 29 (4): 59-62 (In Russ)].
4. *Климко Н.Н., Хостелиди С.Н., Шадривова О.В. и др.* Инвазивный мукормикоз у онкогематологических больных (результаты проспективного исследования). *Онкогематология*. 2017; 12 (2): 14-22. [Klimko N.N., Didi S.N., Shadrivova O.V., et al. Mucormycosis in oncohematology patients (results of the prospective study). *Oncohematology*. 2017; 12 (2): 14-22 (In Russ)]. doi.org/10.17650/1818-8346-2017-12-2-14-22
5. *Хостелиди С.Н., Зайцев В.А., Пелих Е.В. и др.* Мукормикоз на фоне COVID-19: описание клинического случая и обзор литературы. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2021; 23 (3): 255-262. [Khostelidi S.N., Zaytsev V.A., Pelikh E.V., et al. Mucormycosis following COVID-19: clinical case and literature review. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2021; 23 (3): 255-262. (In Russ)]. doi: 10.36488/cmac.2021.3.255-262
6. *Cornely O.A., Alastruey Izquierdo A., Arenz D., et al.* Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis*. 2019; 19 (12):e405e421. doi: 10.1016/S1473-3099(19)303123
7. *Waizel Haiat S., Guerrero Paz J.A., Sanchez Hurtado L., et al.* A case of fatal rhinoorbital mucormycosis associated with new onset diabetic ketoacidosis and COVID-19. *Cureus*. 2021; 13 (2):e13163. doi: 10.7759/cureus.13163
8. *Donnelly J.P., Chen S.C., Kauffman C.A., et al.* Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin. Infect. Dis*. 2020; 71: 1367-1376. doi: 10.1093/cid/ciz1008
9. *Хостелиди С.Н., Шадривова О.В., Борзова Ю.В. и др.* Клинико-лабораторные особенности мукормикоза у взрослых. *Проблемы медицинской микологии*. 2020; 22 (2): 22-28. [Khostelidi S.N., Shadrivova O.V., Borzova Yu.V., et al. Clinical and laboratory features of mucormycosis in adults. *Problems of medical mycology*. 2020; 22 (2): 22-28 (In Russ)]. doi:10.24412/1999-6780-2020-2-22-28
10. *Duarte R.F., López Jiménez J., Cornely O.A., et al.* Phase 1b study of new posaconazole tablet for prevention of invasive fungal infections in high risk patients with neutropenia. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2014; 58 (10): 57585765. doi: 10.1128/AAC.0305014
11. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19». Версия 14, 27.12.2021 г. Доступно по адресу: <https://static0.minzdrav.gov.ru> [Temporary methodological recommendations "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection COVID19". Version 14, 12/27/2021 Available at: <https://static-0.minzdrav.gov.ru> (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 03.03.2022

Рецензент: М.А. Шевяков

РЕДКИЙ СЛУЧАЙ КРАСНОЙ ОПУХОЛЕВИДНОЙ ВОЛЧАНКИ

¹Хаббус А.Г. (дерматовенеролог)*,
¹Слободских Е.О. (студент), ¹Тихомирова А.Д. (студент), ¹Пирятинская В.А. (доцент),
¹Белова Е.А. (доцент), ²Кляус Н.А. (м.н.с.),
¹Агафонова Е.Р. (clin. ординатор), ¹Шилец Е.Н. (студент)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: кафедра дерматовенерологии; кафедра патологической анатомии; ²Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

Красная опухолевидная волчанка представляет собой редкую клиническую разновидность интегументной формы этой нозологии, в связи с чем возникают трудности диагностики, обусловленные неспецифичностью клинических проявлений, характерных для этого заболевания.

Конкретной теории, касающейся патогенеза красной опухолевидной волчанки, на сегодняшний день не существует. Большинство гипотез выведено из изучения других подтипов красной волчанки. Для нее характерны высокая фоточувствительность по сравнению с другими формами, сезонность – заболевание начинается в летнее время, обострение наступает после пребывания на солнце.

Обязательными условиями при постановке диагноза опухолевидной красной волчанки должны быть подтверждение патоморфологического исследования и проведение прямой реакции иммунофлуоресценции.

Безошибочно установить заболевание сложно, так как оно имитирует другие дерматозы: розацеа, крапивницу, себорейный дерматит, псориаз, себорейную пузырчатку, саркоидоз, эритематозный сетчатый муциноз и т.д., поэтому целью нашей работы является описание показательных клинических случаев.

Ключевые слова: красная волчанка, опухолевидная красная волчанка, заболевания соединительной ткани, аутоиммунные реакции, патоморфология

A RARE CASE OF LUPUS ERYTHEMATOSUS TUMIDUS

¹Khabbus A.G. (dermatovenerologist),
¹Slobodskikh E.O. (student), ¹Tikhomirova A.D. (student), ¹Piryatinskaya V.A. (associate professor), ¹Belova E.A. (associate professor),
²Klyaus N.A. (junior researcher), ¹Agafonova E.R. (resident), ¹Shiletc E.N. (student)

¹North-Western State Medical University named after I.I.

* Контактное лицо: Хаббус Алижан Ганемович,
e-mail: ali.md@mail.ru

Mechnikov: Department of Dermatovenerology, Department of Pathology; ²National Medical Research Centre named after V.A. Almazov, St. Petersburg, Russia

Lupus erythematosus tumidus is a rare integumental disease. This is due to the difficulties of diagnosis, the nonspecificity of the clinical manifestations of lupus erythematosus, as well as the difficulties of differential diagnosis.

A specific theory regarding the pathogenesis of lupus erythematosus does not exist nowadays; the majority of hypotheses have been derived from the researching of other subtypes of lupus erythematosus. It is characterized by high photosensitivity compared to other forms, and seasonality – disease begins in the summer, exacerbation occurs after sun exposure.

Mandatory conditions for the diagnosis of lupus erythematosus tumidus should be confirmation of the pathomorphological examination and direct immunofluorescence test and indirect immunofluorescence test.

It is difficult to accurately diagnose the disease, since it mimics other dermatoses: rosacea, sarcoidosis, erythematous reticular mucinosis, etc. That is why the purpose of our work is to describe the illustrative clinical case presented below.

Key words: lupus erythematosus, lupus erythematosus tumidus, connective tissue diseases, autoimmune reactions, pathomorphology

Красная волчанка (КВ) – мультифакториальное диффузное заболевание соединительной ткани с развитием аутоиммунных реакций и образованием специфических аутоантител; может сопровождаться различными клиническими проявлениями: от разнообразия поражений кожи при интегументных формах до полиморфных высыпаний при системной красной волчанке [1].

На данный момент большое внимание уделяют проблеме классификации красной волчанки, в этой области все еще ведутся дискуссии. Однако выделяют две общепризнанные основные формы болезни: кожную (ККВ) – дискоидную и диссеминированную, а также системную (СКВ), протекающую в острых, подострых и хронических вариантах [2]. Все разграничения основываются на длительности протекания самого заболевания, степени выраженности и локализации воспалительных процессов, которые могут ожидать пациентов с установленным диагнозом со стороны органов и систем [3].

Особого внимания заслуживает опухолевидная красная волчанка (ОКВ, lupus tumidus), которая относится рядом авторов к одной из разновидностей интегументных форм заболевания. Это объясняется трудностями диагностики, неспецифичностью клинических проявлений, характерных для красной волчанки, а также сложностями дифференциальной диагностики.

Впервые в истории ОКВ была упомянута немецким дерматовенерологом Эрихом Гофманном в 1909 г. Спустя 21 год Gougerot H. и Bournier R. описали нескольких пациентов со схожими проявлениями. Данная форма красной волчанки диагности-

руется крайне редко. В проводимом исследовании в 2013 г. European Society of Cutaneous Lupus Erythematosus (EUSCLE) было определено, что частота встречаемости среди женщин выше, чем среди мужчин. В обследуемой группе из 1002 человек с КВ были выявлены больные с диагнозом ОКВ, составляющие 6,5% из общего количества [4].

Отметим, что в когорте с диагнозом «Lupus Erythematosus» 4% составляют пациенты с ОКВ вместе с одним или более различных подтипов КВ. 60% составили женщины, что показывает меньшую гинекотропию по сравнению с остальными формами данного заболевания [4, 5].

В когорте из 100 больных ОКВ в Германии были выявлены схожие гендерные соотношения (68% женщин), как и в недавнем многоцентровом исследовании в Италии, в котором 72/108 пациентов с ОКВ (66,7 %) были женщинами [5, 6].

Конкретной теории, касающейся патогенеза красной опухолевидной волчанки на сегодняшний день не существует, большинство гипотез выведено из изучения других подтипов КВ. Вызванное ультрафиолетовым излучением повреждение кожи, образование аутоантител и развитие аутоиммунных реакций, нарушение клиренса апоптотических клеток, а также врожденная и приобретенная дисфункция иммунной системы (нарушение регуляции функций Т-лимфоцитов и дендритных клеток) – все это вовлечено в развитие поражений при ОКВ [7].

Для опухолевидной КВ характерны высокая фоточувствительность, сезонность – заболевание начинается в летнее время, обострение наступает после пребывания на солнце. Некоторые больные отмечают ухудшение состояния даже при нахождении возле окна в солнечные дни. Пациенты могут жаловаться на легкий зуд. Как было сказано, важным звеном патогенеза заболевания является воздействие ультрафиолетового излучения на открытые участки кожи. Опухолевидная красная волчанка обладает более выраженной фоточувствительностью по отношению к остальным формам КВ [8]. Клинически проявляется многообразными высыпаниями в виде отечных пятен, похожих на уртикарии, часто в виде колец, а также папул и бляшек или узлов, без макроскопических эпидермальных изменений, таких как фолликулярные пробки или чешуйки, которые рассасываются без остаточных рубцов или гипопигментации, исчезая бесследно [9]. В дальнейшем возможно повторное возникновение кожных изменений. Высыпания могут формировать кольца и даже «кольцо в кольце». Элементы имеют тенденцию выступать над поверхностью кожи, в центре они более сглаженные. Цвет варьирует от розового до фиолетового.

Гистологическая картина при опухолевидной КВ характеризуется формированием плотных дермальных периваскулярных и периаднексальных (вокруг сальных желез) лимфоцитарных инфильтра-

тов со значительными отложениями муцина между коллагеновыми волокнами дермы, при этом эпидермис остается интактным. Признаки повреждения базальной мембраны минимальны или полностью отсутствуют [1, 9].

Неспецифичность проявлений данной патологии, трудности постановки диагноза и дифференциальной диагностики определяют актуальность нашей работы.

Безошибочно установить заболевание достаточно сложно, так как оно имитирует другие дерматозы: розацеа, крапивницу, себорейный дерматит, псориаз, себорейную пузырчатку, саркоидоз, эритематозный сетчатый муциноз и т.д. Именно поэтому целью нашей работы является описание представленного ниже показательного клинического случая.

Представляем описание редких клинических случаев опухолевидной красной волчанки из собственной практики.

Первый клинический случай.

Пациент В., 29 лет, обратился с жалобами на высыпания в области лица. Считал себя больным с конца ноября 2020 г. Связывал свое состояние с тем, что ранее контактировал со стекловатой при проведении ремонтных работ. Тогда был отмечен первый очаг эритемы в области правой щеки.

В декабре 2020 г. пациент был на первичном приеме у дерматовенеролога, где ему поставлен диагноз «аллергический дерматит». Лечение проводили антигистаминными препаратами, наружно – метилпреднизолоном без выраженной положительной динамики: высыпания становились бледнее, но полного разрешения не происходило.

Пациент отмечал появление на лице новых свежих эритематозных высыпаний, первичный очаг постепенно становился больше. 21.12.20 г. была проведена повторная консультация у дерматолога, рекомендован соскоб с лица, ресниц, век (Demodex не обнаружен). По данным клинического анализа крови: гемоглобин (Hb) – 142 г/л, лейкоциты – $4,9 \times 10^9$ /л, палочкоядерные (п/я) – 3%, сегментоядерные (с/я) – 38,9%, эозинофилы – 2,1%, нейтрофилы – 44%, моноциты – 12%, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – 5 мм/ч. По данным биохимического анализа крови: мочевины – 9,5 ммоль/л, креатинин – 11^5 ммоль/л, глюкоза – 5,9 ммоль/л, аланинаминотрансфераза (АЛТ) – 16 Ед/л, аспартатаминотрансфераза (АСТ) – 22 Ед/л, холестерин – 6,7 ммоль/л.

15.02.21 г. в связи с тем, что высыпания сохранялись на коже лица, мужчина обратился к дерматовенерологу в частный центр, где поставлен диагноз «пиодермия?». Назначен прием Юнидокс Солютаб – 100 мг 2 раза в день 5 дней, Ликопид – 10 мг натошак 10 дней, Нейробион – по одной ампуле в/м через день №6, Фуцидин-Г + Метрогил 1:1 – 2 раза в день.

25.02.21 г. пациент обратился в частный меди-

цинский центр г. Сочи, где дерматологом был поставлен «неуточненный контактный дерматит». Назначен клинический анализ крови, ферритин, С-реактивный белок (СРБ), ревматоидный фактор (РФ). Даны рекомендации: Дипроспан – 1,0 мл внутримышечно однократно; Блогир 3 – по 1 таблетке вечером 10 дней; наружно Розамет – 2 раза в день 10 дней, Офломелид – на ночь 10 дней. По данным клинического анализа крови от 27.02.21г.: Hb – 155 г/л, эритроциты – $5,67 \times 10^{12}$ /л лейкоциты – $7,9 \times 10^9$ /л, тромбоциты – 335×10^9 /л, п/я – 1%, с/я – 68%, лимфоциты – 19%, моноциты – 12%, СОЭ – 5 мм/ч; ферритин – 239,7 нг/мл, РФ – 19 МЕ/мл, СРБ – 0,02 мг/дл, тестостерон – 8,54 нмоль/л, эстрадиол – 111 пмоль/л, пролактин – 159,8 мМЕ/л, дегидроэпиандростерон-сульфат – 11,0 мкмоль/л, инсулин – 10,9 мкМЕ/мл.

При повторном обращении 04.03.21 г. был установлен диагноз «лимфоцитарная инфильтрация Джесснера-Канофа?».

Даны рекомендации: Юнидокс Солютаб – 100 мг 2 раза в день 11 дней, Баксет Форте – по 1 таблетке 2 раза в день 10 дней, Валацикловир – по 500 мг по 1 таблетке 2 раза в день 3 дня, наружно продолжить Розамет – 2 раза в день, Офломелид – на ночь.

12.03.21 г. пациент обследован на антитела к dsDNA – 3,3 Ед/мл, антинуклеарный фактор (АНФ) на Нер-2-клетках, иммуноглобулин G (IgG) – 1:80, тип свечения – ядерный крупногранулярный, С-пептид – 2,2 нг/мл, а также маркеры аутоиммунных заболеваний: антинуклеарные антитела (ANA) IgG, 25 антигенов – не обнаружены.

16.03.21 г. поставлен диагноз «Лимфоцитарная инфильтрация Джесснера-Канофа? Саркоидоз Бека? Красная волчанка?», рекомендовано ультразвуковое исследование органов брюшной полости, компьютерная томография органов грудной клетки, наружно назначен Элидел – 2 раза в день 10 дней. УЗИ брюшной полости от 16.03.21 г.: УЗ признаки незначительной гепатомегалии и диффузных изменений паренхимы печени, деформации желчного пузыря, диффузных изменений поджелудочной железы, умеренного метеоризма. При мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) картина соответствует минимальным проявлениям бронхопневмонии нижней доли правого легкого, визуализированные лимфоузлы средостения и аксиллярных впадин не увеличены.

17.03.21 г. пациент проконсультирован пульмонологом, поставлен диагноз «красная волчанка?». Результаты назначенных лабораторных исследований: RPR (Rapid Plasma Reagin) – отрицательный; вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) 1,2 – отрицательный; поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) (кач.) – отрицательный; антитела к антигенам вируса гепатита С (anti HCV total) – отрицательный; циркулирующие иммунные комплексы

(ЦИК) – 5,63 Ед/мл, IgA – 2,95 г/л, незначительное повышение IgM – 2,49 г/л и IgG – 18,61 г/л, С3 компонент комплемента – 1,30 г/л, С4 компонент комплемента – 0,30 г/л, антинуклеарный фактор (АНФ) < 1:160.

В апреле 2021 г. пациент В. обратился на кафедру дерматовенерологии СЗГМУ им. Мечникова. Status specialis: на коже лица в области правой щеки выявили три очага стойкой отечной эритемы красного цвета с цианотичным оттенком, округлых очертаний, с четкими границами. Самый крупный очаг (около 7 см в диаметре) располагался на коже правой щеки от нижнего века правого глаза до правой носогубной борозды, средний очаг (размером около 3,5 см) – на коже в области нижней трети лица, самый маленький очаг (около 1 см в диаметре) – над верхней губой справа. На поверхности наиболее крупного очага отмечали единичные небольшие участки поверхностной рубцовой атрофии (Рис. 1).

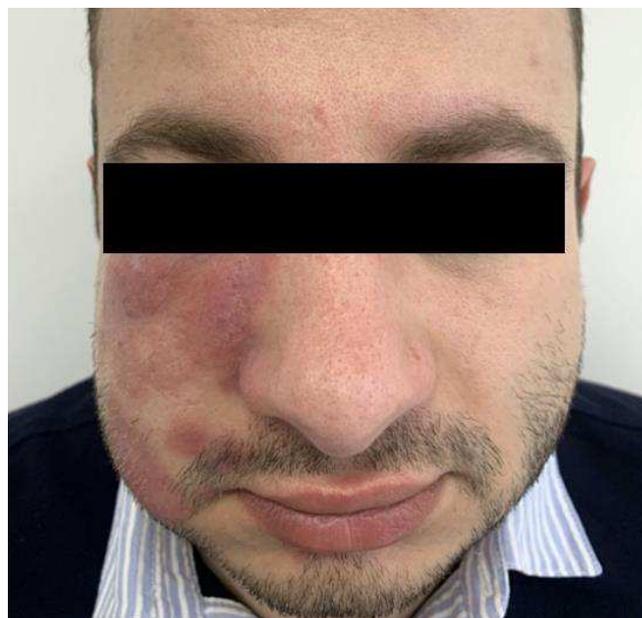


Рис. 1. Пациент В. В области кожи правой щеки расположены три очага стойкой отечной эритемы с единичными небольшими участками поверхностной атрофии.

При дерматоскопии очагов обнаружены ветвящиеся сосуды, единичные фолликулярные кератотические пробки, белый перифолликулярный ареол, а также белые бесструктурные области, отсутствие явных проявлений фолликулярного гиперкератоза в виде чешуек (Рис. 2, 3).

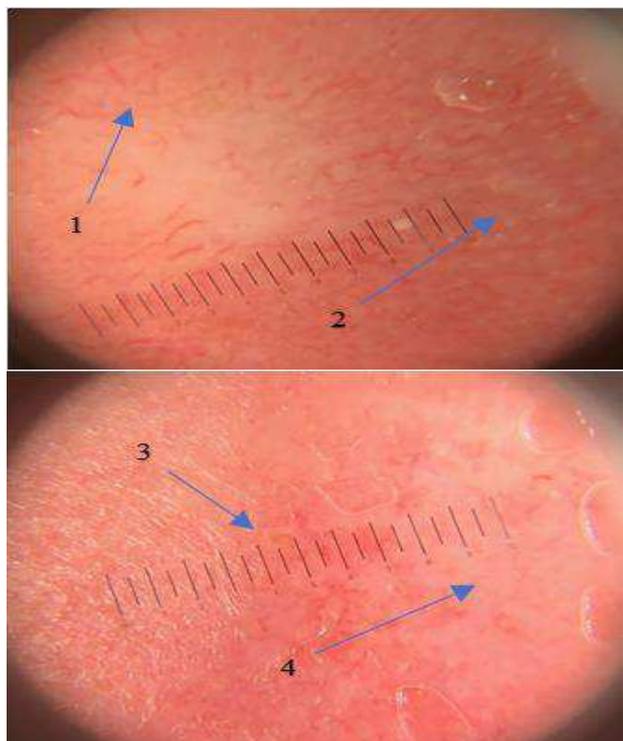


Рис. 2, 3. Пациент В. Дерматоскопия кожи: ветвящиеся сосуды (1), белый перифолликулярный ареол (2), фолликулярные кератотические пробки (3), а также белые бесструктурные области (4).

Установлен предварительный диагноз: опухолевидная красная волчанка. Рекомендованы биопсия кожи с последующим гистологическим исследованием, а также прямая реакция иммунофлуоресценции (РИФ).

Непрямая РИФ – результат отрицательный. Заключение патоморфологического исследования: эпидермис истончен с очаговым паракератозом, внутриклеточным отеком преимущественно базальных клеток, очаговым спонгиозом фолликулярного эпителия; в верхней части дермы слабовыраженный отек, очаговая периваскулярная и выраженная перифолликулярная лимфоплазмоцитарная инфильтрация, проникающая в фолликулярный эпителий, с переходом на жировую клетчатку; в глубоких отделах дермы периваскулярно определяется слабобазофильное окрашивание (Рис. 4).

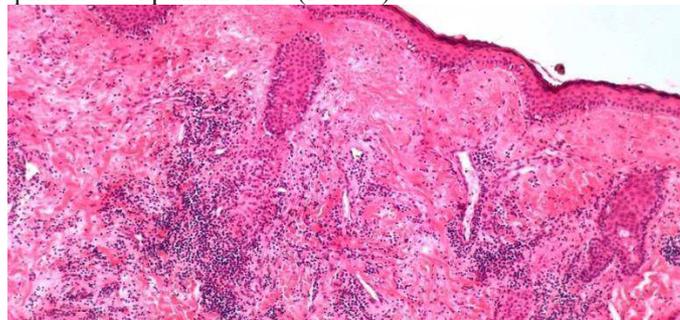


Рис. 4. Пациент В. Патоморфологическое исследование: внутриклеточный отек базальных клеток с их вакуолизацией, в дерме – отек, густая периваскулярная и перифолликулярная лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофилов, PAS-положительные включения; ув. X100, окр. гематоксилином и эозином.

При использовании дополнительных окрасок (ШИК, Ван Гизон, трихром по Массону, эластика) отмечали отложение незначительного количества муцина (Рис. 5, 6).

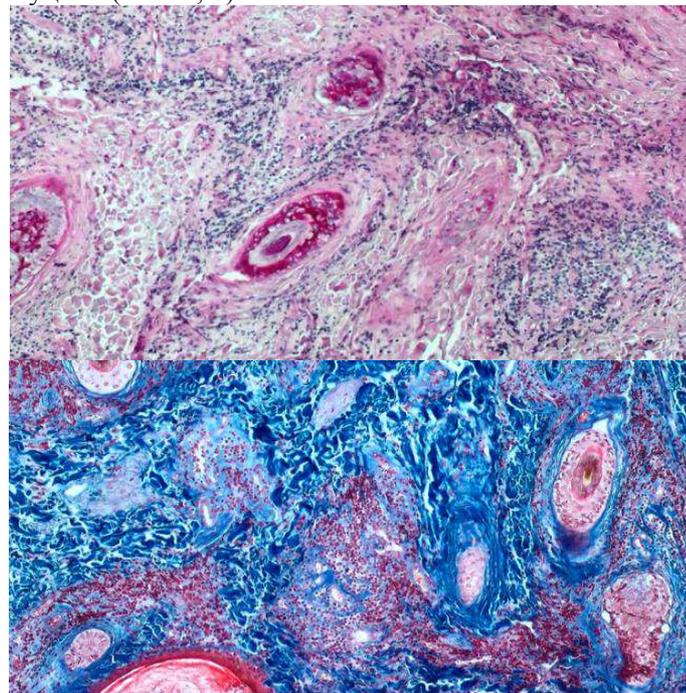


Рис. 5, 6. Пациент В. Патоморфологическое исследование: незначительное отложение муцина в дерме; ув. X100, PAS-реакция, трихром по Массону.

Заключение: гистологическая картина преимущественно соответствует опухолевидной красной волчанке.

Методом прямой РИФ (Lupus Band Test) выявлены мелкогранулярные отложения IgM (3+), IgA (+), C3 (1+) по ходу базальной мембраны (Рис. 7).

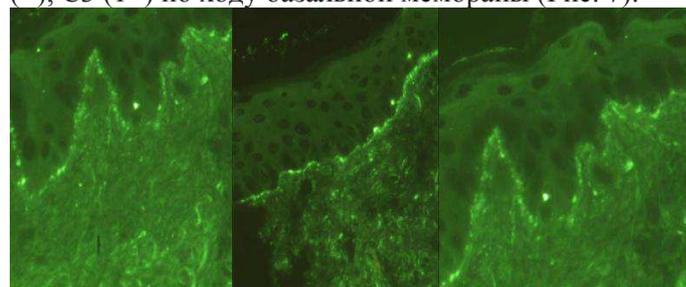


Рис. 7. Пациент В. Метод прямой РИФ.

Второй клинический случай.

Мужчина Д., 52 года, обратился к нам с жалобами на высыпания на коже лица и спины, не сопровождающиеся субъективными ощущениями. Из анамнеза известно, что больной отмечал рецидивирующие высыпания на коже лица в течение последних 5 лет, которые связывал с приемом алкоголя и употреблением острой пищи. При более тщательном сборе анамнеза нами была выявлена сезонность заболевания (обострения чаще бывали в весенне-летний период), а также плохая переносимость пациентом солнца. Получал топическую стероидную терапию с коротким временным эффектом. В декаб-

ре 2019 г. ввиду очередного рецидива, сопровождающегося появлением высыпаний, обратился к дерматологу. Был установлен диагноз крапивницы, рекомендована диета, сорбенты, антигистаминные препараты, топические кортикостероидные средства без положительной динамики. Последнее обострение наблюдал в марте 2020 г., когда на коже лба и щек стали появляться отечные элементы, без выраженных субъективных ощущений. Пациент обратился к нам на консультацию в начале мая 2020 г.

Объективно: на коже в области щек в нижней трети лица, височной области справа, над бровями и спине, а также правой боковой поверхности шеи, за ушной раковиной визуализировались розовато-красные очаги отечной эритемы кольцевидных очертаний до 2,5 см в диаметре, а также красного цвета сочные папулы размерами от 3 мм до 1 см в диаметре (Рис. 12, 13).



Рис. 8, 9. Пациент Д. На коже лица – розовато-красные очаги отечной эритемы кольцевидных очертаний, папулы.

При повторном обращении через 2 недели количество отечных эритематозных пятен увеличилось, появились свежие высыпания на боковых поверхностях шеи, височной и скуловых областях. Высыпания были размерами от 5 мм до 8 см в диаметре, округлых очертаний, застойно-красного цвета. Признаков шелушения и рубцовой атрофии не наблюдали (Рис.10, 11).



Рис. 10, 11. Пациент Д. Отрицательная динамика спустя две недели после первой консультации.

Поставлен предварительный диагноз: опухолевидная красная волчанка.

Пациенту Д. был проведен ряд обследований. В клиническом и биохимическом анализах крови патологии не выявлено. Общий анализ мочи – без патологии. Взята биопсия кожи с целью гистологического исследования и прямой реакции иммунофлуоресценции. По назначению ревматолога выполнены анализы крови на антинуклеарный фактор (АНФ) и антитела к дсДНК.

Результаты: АНФ < 160, Ат к дсДНК – 0,03. Методом прямой РИФ выявлены мелкогранулярные отложения IgA (+), IgG (2+), IgM (+) по ходу базальной мембраны. При патоморфологическом исследовании обнаружено: внутриклеточный отек базальных клеток; в дерме – отек, густая периваскулярная и перифолликулярная лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофилов, проникающих в фолликулярный эпителий с вакуолизацией его клеток, PAS-положительными включениями в них; при окрасках по Ван-Гизону и Вейгерту явного повреждения соединительной ткани не отмечено. Данная гистологическая картина соответствует диагнозу красной волчанки (Рис. 12).

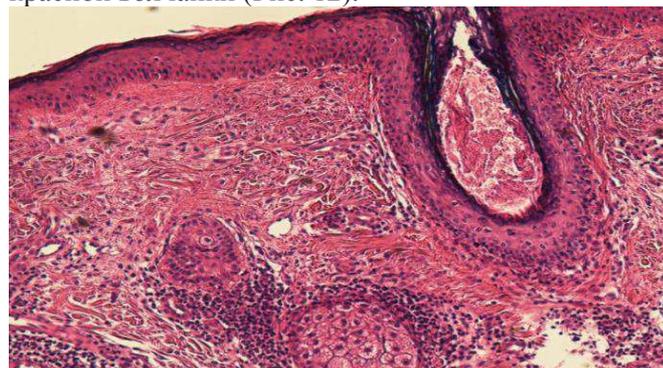


Рис. 12. Пациент Д. Патоморфологическая картина: истончение эпидермиса, внутриклеточный отек базальных кератиноцитов, слабовыраженный отек дермы, периваскулярная и выраженная перифолликулярная лимфоплазмоцитарная инфильтрация; ув.Х100, окраска гематоксилином и эозином.

На основании клинической картины, данных анамнеза заболевания, результатов дерматоскопии, патоморфологического исследования и прямой РИФ обоим больным поставлен окончательный диагноз опухолевидной красной волчанки.

Пациентам назначена терапия: избегать инсоляции и регулярно использовать фотопротективные средства (солнцезащитный невидимый флюид Anthelios SPF 50+/PPD46); внутрь плаквенил – 200 мг по 1 таблетке 2 раза в день пятидневными курсами с двухдневными перерывами 5 курсов, затем по 1 таблетке в течение всего летнего периода; наружно – крем Адвантан, обладающий выраженной проникающей способностью и эффективным противовоспалительным действием, а также низким атрофогенным потенциалом.

Через 2 месяца на фоне проводимой терапии

отмечали значительную положительную динамику в виде разрешения очагов, уменьшения отека и количества высыпаний, побледнения элементов, а также отсутствия появления свежих очагов (Рис. 13, 14).



Рис. 13, 14. Положительная динамика: уменьшение отека, эритемы, частичное разрешение очагов.

ВЫВОДЫ

Опухолевидная красная волчанка (*Lupus tumidus*) является одной из редко встречающихся интелгументных форм этого заболевания, отличающейся неспецифичностью клинических проявлений, что обуславливает сложности в постановке верного диагноза.

Важно обратить внимание при сборе анамнеза на факторы, способствующие возникновению данной патологии: характерная сезонность обострений, наличие повышенной фоточувствительности и длительной инсоляции, прием фотосенсибилизирующих лекарственных препаратов и алкоголя.

Клинические проявления характеризуются многообразными высыпаниями в виде отечных уртикарноподобных эритематозных пятен, часто имеющих форму в виде колец, а также папул и бляшек или узлов без макроскопических эпидермальных изменений (фолликулярные пробки или чешуйки), которые рассасываются без остаточных рубцов или гипопигментации, исчезая бесследно.

Обязательными условиями для своевременной постановки диагноза опухолевидной красной волчанки должно быть проведение патоморфологического исследования и прямой РИФ, т.к. заболевание часто имитирует другие дерматозы, а пациенты длительное время не получают должного лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козловская В.В., Тихоновская И.В., Козловский В.И. Особенности клиники и дифференциального диагноза опухолевидной волчанки. Академия дерматопатологии им. Б. Акермана, Нью-Йорк, США; Витебский государственный медицинский университет, Республика Беларусь. [Kozlovskaya V.V., Tikhonovskaya I.V., Kozlovsky V.I. Features of the clinic and differential diagnosis of lupus tumour. B. Ackerman Academy of Dermatopathology, New York, USA; Vitebsk State Medical University, Republic of Belarus (In Russ)].
2. Kuhn A., Landmann A. The classification and diagnosis of cutaneous lupus erythematosus. *J. Autoimmun.* 2014; 48-49: 14-9. doi: 10.1016/j.jaut.2014.01.021
3. Родионов А.Н., Заславский Д.В., Сыдииков А.А. Дерматология. Иллюстрированное руководство клинической диагностики по профессору Родионову А.Н. М.: Издательство «Граница», 2018; 994 с. [Rodionov A.N., Zaslavsky D.V., Sadikov A.A. Dermatology. Illustrated guide to clinical diagnostics by Professor Rodionov A.N. M.: Publishing House "Border". 2018; 994 p. (In Russ)].
4. Kuhn A., Sigges J., Biazar C., et al. Influence of smoking on disease severity and antimalarial therapy in cutaneous lupus erythematosus: analysis of 1002 patients from the EUSCLE database. *Br. J. Dermatol.* 2014; 171 (3): 571-579. doi:10.1111/bjd.13006
5. Verdelli A., Coi A., Marzano A.V., et al. Autoantibody profile and clinical patterns in 619 Italian patients with cutaneous lupus erythematosus. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2019; 33 (4): 742-752. doi:10.1111/jdv.15147
6. Patsinakidis N., Gambichler T., Lahner N., et al. Cutaneous characteristics and association with antinuclear antibodies in 402 patients with different subtypes of lupus erythematosus. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2016; 30 (12): 2097-2104. doi:10.1111/jdv.13769

7. Privettea E.D., Wertha V.P. Update on pathogenesis and treatment of CLE. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2013; 25 (5): 584-90. doi: 10.1097/BOR.0b013e32836437ba

8. Patsinakidis N., Kautz O., Gibbs B.F., Raap U. Lupus erythematosus tumidus: clinical perspectives. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 2019; 12: 707-719. doi: 10.2147/CCID.S166723

9. Rodriguez-Caruncho C., Bielsa I., Fernández-Figueras M.T., et al. Lupus erythematosus tumidus: a clinical and histological study of 25 cases. *Lupus.* 2015; 24 (7): 751-5. doi: 10.1177/0961203314560204

Поступила в редакцию журнала 24.02.2022

Рецензент: Т.В. Медведева

УДК 616.5

DOI: 10.24412/1999-6780-2022-1-32-35

НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ТЕРРА ФИРМА-ФОРМНОГО ДЕРМАТОЗА, ИЛИ ГРЯЗНОГО ДЕРМАТОЗА ДУНКАНА

Раводин Р.А. (доцент кафедры), Корнишева В.Г. (профессор кафедры)*

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (кафедра дерматовенерологии), Санкт-Петербург, Россия

Terra firma-forme (Terra firma-forme) дерматоз, или грязный дерматоз Дункана, является редко встречаемым дерматозом, характеризующимся бессимптомной кожной пигментацией, напоминающей грязную кожу. Дерматоскопия – это неинвазивный метод диагностики, который широко используется в практике дерматологов. Обследованы 3 женщины с диагнозом дерматоза Дункана. У двух пациенток дерматоскопическая картина была представлена желтовато-коричневого цвета плоскими чешуйками, пятнами, расположенными линейно и мозаично. У девочки 14 лет дерматоскопия была иной: коричневатые псевдоглобулы вытянутой формы, расположенные во взаимно перпендикулярных плоскостях, напоминающие картину QR-кода, и перифолликулярная гиперпигментация. Протирание 70% этиловым спиртом привело к полному разрешению очагов у всех пациентов.

Ключевые слова: Терра фирма-формный дерматоз, грязный дерматоз Дункана, дерматоскопия

NON-INVASIVE DIAGNOSTIC METHODS OF TERRA FIRMA-FORME DERMATOSIS OR DUNCAN'S DIRTY DERMATOSIS

Ravodin R.A. (associate professor), Kornisheva V.G. (professor of the department)

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

Terra firma-forme dermatosis or Duncan's dirty dermatosis is a rare dermatosis characterized by asymptomatic skin pigmentation resembling dirty skin. Dermatoscopy is a non-invasive diagnostic method that is widely used in the practice of dermatologists. Three women with a diagnosis of Duncan's dermatosis were examined. In two patients, the dermatoscopic picture was represented by yellowish-brown scales, spots arranged linearly and mosaically. A 14-year-old girl had a different dermatoscopy: brownish pseudoglobules of an elongated shape, located in mutually perpendicular

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

planes, resembling a QR code pattern, and perifollicular hyperpigmentation. Rubbing with 70% ethanol resulted in complete resolution of lesions in all patients.

Key words: Terra firma-forme dermatosis, Duncan's dirty dermatosis, dermoscopy

ВВЕДЕНИЕ

Дерматологические заболевания, сопровождающиеся развитием пигментации, напоминающей «грязную кожу», включают в себя Терра фирма-формный (Terra firma-forme) дерматоз (или грязный дерматоз Дункана), отрубевидный лишай, Х-сцепленный ихтиоз, чёрный акантоз, сетчатый папилломатоз Gougerot и Carteau, пепельный дерматоз, dermatosis neglecta, синдром грязной шеи при атопическом дерматите, себорейный кератоз, пигментацию при беременности. Эти дерматозы имеют сходные клинические симптомы, иногда из-за этого их называют «грязные дерматозы», что вызывает сложности при диагностике и назначении лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С 2020 по 2022 гг. обследованы 3 женщины в возрасте от 14 до 25 лет с Терра фирма-формным дерматозом (ТФФД), которые предъявляли жалобы на наличие стойких коричневых пятен на коже. Все пациентки пробовали различные моющие средства, но удалить пятна им не удавалось, постепенно количество высыпаний увеличивалось. Всем больным проведено дерматоскопическое исследование с использованием 10× поляризованного ручного дерматоскопа (DermLite DL100). Результаты клинко-дерматоскопического обследования приведены в таблице №1.

Таблица 1

Клинко-дерматоскопические признаки при Терра фирма-формном дерматозе

Возраст	Пол	Длительность течения	Локализация высыпаний	Дерматоскопические признаки	Сопутств. заболевания
14 лет	женский	4 года	Грудь, живот, лобок (Рис. 1,3)	Коричневатые псевдоглобулы вытянутой формы, расположенные во взаимно перпендикулярных плоскостях, напоминающие картину QR-кода (Рис.2,4)	нет
20 лет	женский	6 месяцев	Грудь, передняя поверхность предплечий (Рис.5)	Линейно и мозаично расположенные желтовато-коричневого цвета прямоугольные пластинчатые чешуйки (Рис.6)	нет
25 лет	женский	5 месяцев	Шея, грудь	Желтовато-коричневого цвета пятна и многоугольные чешуйки, расположенные мозаично	Ожирение

Ниже более подробно приводим описание одного из случаев.

Под нашим наблюдением находилась девочка, 14 лет, которая предъявляла жалобы на наличие пигментации, напоминающей «грязную кожу» на животе (включая область пупка) и в надлобковой области. С её слов, пигментация впервые появилась в 10 лет, с тех пор присутствовала практически постоянно. Летом состояние несколько улучшалось за счёт меньшей заметности высыпаний на фоне загара. Девочка европейского происхождения, житель Санкт-Петербурга, имеет сформированные гигиенические навыки, регулярно принимает ванну и/или душ, после которых пигментация не изменяется.

Общее состояние удовлетворительное. Сознание ясное, положение активное. Удовлетворительного питания. Костно-мышечная система развита в соответствии с возрастом и полом. Пульс – 72 удара в минуту, удовлетворительного наполнения и напряжения. Артериальное давление – 110/80 мм рт. ст. Тоны сердца ясные, звучные. Дыхание везикулярное, хрипов нет. При перкуссии – ясный лёгочный звук, сравнительная перкуссия одинакова с обеих сторон. Голосовое дрожание проводится одинаково во все отделы грудной клетки. Грудная клетка равномерно участвует в акте дыхания, частота дыхательных движений – 16 в минуту. Живот мягкий, безболезненный при пальпации. Печень и селезёнка не увеличены. Поколачивание по поясничной области безболезненно с обеих сторон.

Локальный статус: процесс поражения кожи носит распространённый характер, локализуясь на коже груди, живота и лобка, высыпания представлены мелкими пигментными пятнами, сливающимися в очаг линейной формы, который располагается вдоль белой линии живота, включая пупок и надлобковую область (Рис.1).



Рис. 1. Терра фирма-формный дерматоз у 14-летней девочки (случай 1). Темно-коричневые пятна расположены вдоль белой линии живота.

При дерматоскопии определяются крупные коричневатые псевдоглобулы вытянутой формы, расположенные во взаимно перпендикулярных плоскостях и формирующие картину, напоминающую QR-код (Рис. 2).



Рис. 2. Дерматоскопия очага Терра фирма-формного дерматоза у 14-летней девочки (случай 1). Коричневатые псевдоглобулы вытянутой формы, расположенные во взаимно перпендикулярных плоскостях, напоминающие картину QR-кода.

При протирании кожи ватным диском, смоченным изопропиловым спиртом, пятна «стираются» – исчезают, оставляя неизменённую или слегка гиперемизированную кожу (Рис. 3, 4).

На основании клинической картины, пробы с изопропиловым спиртом, выставлен диагноз «грязный дерматоз Дункана».



Рис. 3. Уменьшение коричневой окраски после протирания очага ватным диском, смоченным 70% изопропиловым спиртом. На ватном диске после использования – признаки удаления коричневой пигментации.



Рис. 4. Дерматоскопия очага после протирания ватным диском, смоченным 70% изопропиловым спиртом. Значительное уменьшение коричневатых высыпаний с сохранение перифолликулярной пигментации, требующей дальнейшей обработки.



Рис. 5. Terra фирма-формный дерматоз у 20-летней женщины (случай 2, табл.1). Сливающиеся желтовато-коричневые плоские чешуйки располагаются на передней поверхности предплечья.

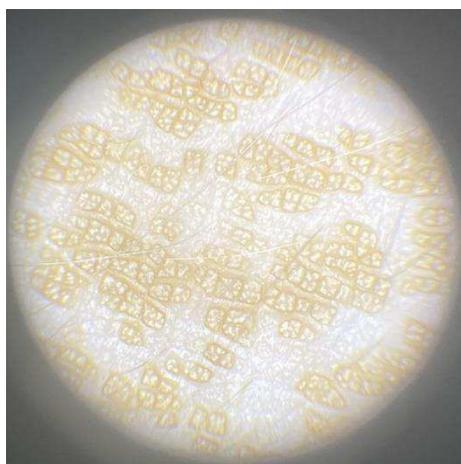


Рис. 6. Дерматоскопия очага Terra фирма-формного дерматоза на передней поверхности предплечья у 20-летней женщины (случай 2, табл.1). Линейно и мозаично расположенные желтовато-коричневого цвета блестящие плоские чешуйки, повторяющие кожный рисунок.

ОБСУЖДЕНИЕ

Этот дерматоз был впервые описан Duncan W.C., Tschen J.A., Knox J.M. в 1987 г. под названием Terra firma-forme dermatosis, что в переводе с латинского означает «дерматоз, напоминающий поверхность твердой (высохшей) земли», впоследствии он получил различные наименования «грязный дерматоз Дункана», «синдром Диогена» [1-3]. Terra фирма-формный дерматоз – это нарушение кератинизации с бессимптомным грязеподобным внешним видом, которое возникает несмотря на адекватную гигиену. Клиническая картина дерматоза варьирует от пятен коричневатого цвета до бархатистых гиперкератотических бляшек. Хотя Terra фирма-формный дерматоз был впервые описан более 20 лет назад и считается нередким в клинической практике, однако мало что известно о заболеваемости. При анализе историй болезни 256 пациентов со средним возрастом 18,34 года соотношение женщин и мужчин составило 1:37 [1].

Грязный дерматоз Дункана представляет собой бессимптомно протекающую пигментацию кожи коричневатого-чёрного цвета различной степени выраженности и распространённости, устойчивую к воздействию моющих средств, но исчезающую под воздействием спиртосодержащих растворов [2]. В представленном нами случае это была распространённая пигментация по типу грязной кожи вдоль белой линии живота, что встречается довольно редко. Иногда высыпания могут приобретать вид папилломатозных или веррукозных бляшек. Наиболее частая локализация высыпаний – на коже шеи, подмышечных впадин, груди, реже – на лице, в складках за ушами, в области пупка, на коже живота, иногда – в паховых складках, в области лодыжек, на стопах (в области межпальцевых складок) [4]. Высыпания носят как односторонний или локальный характер, так и симметричное расположение, что было и у наших пациенток. У детей наиболее частые локализации – это кожа шеи, дистальные отделы голеней и лицо [5]. У двух наших пациенток патологический процесс носил симметричный характер. Течение заболевания хроническое, очаги со временем могут увеличиваться в размерах, а в некоторых случаях спонтанно регрессировать. Причины его неизвестны, предполагается взаимосвязь с нарушением процесса кератинизации, что приводит к задержке созревания кератиноцитов с накоплением в них меланина. Неупорядоченное накопление и уплотнение кератиноцитов с окружающим кожным салом и грязью в конечном итоге приводит к гиперкератозу и гиперпигментации, клинически наблюдаемые в коже при ТФФВ [2, 6, 7].

При дерматоскопии наиболее часто описывают мозаичный паттерн (представленный полигональными пластинчатыми коричневыми чешуйками, расположенными в виде мозаичного узора), несколько

реже – себорейный кератоз-подобный паттерн (с линейными или криволинейными структурами), а также перифолликулярную пигментацию в виде пигментных точек [8]. В демонстрируемом нами случае имеется ранее неописанный паттерн, напоминающий картину QR-кода, образованный псевдоглобулами вытянутой формы, расположенными во взаимно перпендикулярных плоскостях.

Биопсия не показана. Обычно проводят гистологическое исследование, когда ТФФД клинически не подозревается. Наблюдаются пластинчатый гиперкератоз, ортокератоз, кератиновые глобулы в роговом слое, акантоз, папилломатоз и базальная пигментация эпидермиса при отсутствии воспаления [2, 7].

При проведении дифференциальной диагностики клинически грязный дерматоз Дункана наиболее схож с *dermatosis neglecta* (DN). Термин *neglecta* впервые ввели в 1995 г. Poskitt L. и соавт., которые еще дали и другое название – немытый дерматоз (*unwashed dermatosis*). Заболевание вызывается недостаточной гигиеной определенных частей тела, как правило, из-за какой-то формы инвалидности или состояния, характеризуется наличием бессимптомных, гиперпигментированных бляшек с немного папилломатозной поверхностью грязно-коричневого цвета [9]. DN обычно развивается через несколько месяцев после инвалидности или других недугов, по причине которых пациенты редко принимают ванну или душ либо вообще не моются. Локализация поражений такая же, как при ТФФВ. Высыпания могут быть представлены пигментными пятнами и/или папулами с бородавчатой поверхностью [9, 10]. Это происходит в основном из-за накопления кожного

сала, пота, кератина и грязи, что приводит к образованию бородавчатого налета с приставшими чешуйками, похожими на кукурузные хлопья. В отличие от пациентов с ТФФВ эти высыпания легко удаляются после мытья очага с мылом или другими моющими средствами. Обычно наши пациентки принимали душ с моющими средствами 1-2 раза в день, и высыпания не исчезали, что характерно для ТФФВ.

Дисхромические высыпания при дерматозе Дункана удаляются применением 70% изопропилового спирта: это является как диагностическим, так и терапевтическим [1-5]. Иногда поражения могут рецидивировать, что требует проведения повторного лечения.

ВЫВОДЫ

Неинвазивными методами диагностики Тетра фирма-формного дерматоза, или грязного дерматоза Дункана, являются применение спиртовой салфетки и дерматоскопия. Дерматоз проявляется в виде бессимптомных коричневых, похожих на грязь, пятнистых высыпаний, устойчивых к моющим средствам, но которые исчезают после протирания кожи 70%-ным изопропиловым спиртом. Дерматоскопическая картина имеет свои особенности – наиболее часто встречается мозаичный паттерн, реже – себорейный кератоз-подобный паттерн, нами описан новый паттерн, напоминающий QR-код.

Важно учитывать возможность этого доброкачественного дерматологического заболевания, чтобы избежать ненужных исследований (биопсий и других анализов), а также необоснованной лекарственной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Sechi A., et al.* Terra firma-forme dermatosis: a systematic review. *Int. J. Dermatol.* 2021; 60 (8): 933-943. doi: 10.1111/ijd.15301
2. *Greywal T., Cohen P.R.* Terra firma-forme dermatosis: A report of ten individuals with Duncan's dirty dermatosis and literature review. *Dermatol. Pract. Concept.* 2015; 5 (3): 8. doi: 10.5826/dpc.0503a08
3. *Unal E., et al.* Terra firma-forme dermatosis. *Wien Med Wochenschr.* 2017; 167 (3-4): 66-69. doi: 10.1007/s10354-016-0519-1
4. *Aslan N.C., et al.* Features of Terra firma-forme dermatosis. *Ann. Fam. Med.* 2018; 16 (1): 52-54. doi: 10.1370/afm.2175
5. *Berk D.R.* Terra firma-forme dermatosis: a retrospective review of 31 patients. *Pediatr. Dermatol.* 2011; 29: 297-300. doi: 10.1111/j.1525-1470.2011.01422.x
6. *Errichetti E., Stinco G.* Dermoscopy in terra firma-forme dermatosis and dermatosis neglecta. *Int. J. Dermatol.* 2017; 56 (12): 1481-1483. doi: 10.1111/ijd.13686
7. *Erkek E., Sahin S., Cetin E.D., Sezer E.* Terra firma-forme dermatosis. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2012; 78: 358-60. doi.org/10.4103/0378-6323.95455
8. *Elmas O.F., Uyar B., Kiliçi A., Kutlu O.* Dermoscopic patterns of terra firma-forme dermatosis. *Dermatology Online Journal.* 2020; 26 (5):13030/qt6j78216z
9. *Suresh P.N., Uvais N.A., et al.* Dermatitis neglecta: a case report in psychodermatology. *Prim. Care Companion. CNS Disord.* 2021; 23 (4): 20102806. doi: 10.4088/PCC.20102806
10. *Sasaya E.M.K., et al.* Dermatitis neglecta. *An Bras Dermatol.* 2015; 90 (Suppl 1): 59-61. doi: 10.1590/abd1806-4841.20153656

Поступила в редакцию журнала 21.03.2022

Рецензент: Чаплыгин А.В.

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ РЕДКОЙ ФОРМЫ КРАСНОГО ПЛОСКОГО ЛИШАЯ НА ПРИМЕРЕ СИНДРОМА ЛИТТЛА-ЛАССЮЭРА-ПИКАРДИ

Хаббус А.Г. (дерматовенеролог)*, Слободских Е.О. (студент), Тихомирова А.Д. (студент), Белова Е.А. (доцент), Агафонова Е.Р. (клин. ординатор), Левикин К.Е. (студент)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: кафедра дерматовенерологии; кафедра патологической анатомии, Санкт-Петербург, Россия

Синдром Литтла-Лассюэра-Пикарди – одна из редких форм красного плоского лишая, которая относится к рубцовым алопециям и характеризуется одновременным определением свойственной ей триаде: рубцовая алопеция волосистой части головы, нерубцовая алопеция подмышечных и паховых областей, фолликулярные папулы. Наличие всех трех признаков для постановки диагноза необязательно, но два симптома встречаются наиболее часто – это фолликулярные папулы на коже и рубцовая алопеция на волосистой части головы.

Дебютирует заболевание с возникновения лихеноидных высыпаний, сопровождающихся зудом. Течение заболевания длительное, часто затяжное, приводящее к возникновению рубцовой атрофии кожи. Встречается синдром Литтла-Лассюэра-Пикарди в любом возрасте, но гораздо чаще его отмечают у людей старшей возрастной группы.

Позднее обращение пациентов, ошибки в постановке диагноза, неправильно назначенная терапия в большей мере приводят к распространению процесса на коже, увеличению очагов рубцовой алопеции, усилению интенсивности зуда, что значительно ухудшает качество жизни пациентов.

Ключевые слова: красный плоский лишай, атипичная форма красного плоского лишая, синдром Литтла-Лассюэра-Пикарди

FEATURES OF THE DIAGNOSIS OF A RARE FORM OF LICHEN PLANUS ON THE EXAMPLE OF THE LITTLE-LASSUEUR-PICARDI SYNDROME

Khabbus A.G. (dermatovenerologist), Slobodskikh E.O. (student), Tikhomirova A.D. (student), Belova E.A. (associate professor), Agafonova E.R. (resident), Levikin K.E. (student)

* Контактное лицо: Хаббус Алижан Ганемович, e-mail: ali.md@mail.ru

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov: Department of Dermatovenerology, Department of Pathology, St. Petersburg, Russia

The Little-Lassueur-Piccardi syndrome is one of the rare forms of lichen planus, which refers to cicatricial alopecia, characterized by simultaneous determination of its characteristic triad: cicatricial alopecia of the scalp, non-cicatricial alopecia of the axillary and inguinal areas and follicular papules. It is not necessary to have all three features to make a diagnosis, but the two most common symptoms are follicular papules on the skin and scarring alopecia on the scalp.

The disease debuts with itching and the occurrence of lichenoid rashes. The course of the disease is long, often protracted, leading to the appearance of cicatricial atrophy of the skin. Little-Lassueur-Piccardi syndrome occurs at any age, but is much more common in people of the older age group.

Late treatment of patients, errors in diagnosis, incorrectly prescribed therapy to a greater extent leads to the spread of the process on the skin, an increase in foci of cicatricial alopecia, an increase in the intensity of itching, which significantly worsens the quality of life of patients.

Key words: lichen planus, atypical form of lichen planus, Little-Lassuaire-Picardi Syndrome

Красный плоский лишай (КПЛ) является хроническим воспалительным дерматозом с поражением кожных покровов, слизистых оболочек полости рта и придатков кожи (волосы, ногти), типичными элементами которого являются лихеноидные папулы.

Могут быть задействованы одна или несколько областей одновременно или последовательно [1]. КПЛ характеризуется атипичными формами и наличием редких синдромов, что требует индивидуализированного подхода к лечению пациентов для получения терапевтического результата.

По данным исследования, проведенного в 2017 г., такие атипичные формы красного плоского лишая, как overlap-синдром с красной волчанкой, overlap-синдром со склероатрофическим лихеном, вульвовагинально-гингивальный синдром, синдром Гриншпана-Потекаева, синдром Литтла-Пикарди-Лассауэра наблюдали у 4,8% (в группе из 105 пациентов) [2].

На сегодняшний день установить точную причину возникновения КПЛ нельзя. Согласно актуальным данным, этот дерматоз следует считать мультифакториальным иммуноопосредованным заболеванием, при котором экспрессия неидентифицированного до настоящего времени антигена кератиноцитами базального слоя приводит к активации и миграции в кожу Т-лимфоцитов с формированием иммунного ответа и воспалительной реакции. Предполагается связь КПЛ с нервными стрессами, приемом лекарственных препаратов, токсико-аллергическим воздействием, а также с вирусными инфекциями (вирусные гепатиты, герпес, ВПЧ-инфекция) [3].

В настоящее время общепризнано выделять несколько форм красного плоского лишая: типичную (классическую), гипертрофическую (веррукозную),

атрофическую, фолликулярную, пигментную, буллезную (пузырную), эрозивно-язвенную и кольцевидную.

Фолликулярная форма КПЛ встречается наиболее часто у людей в зрелом возрасте (40-60 лет), в редких случаях – у детей. Классическая фолликулярная форма КПЛ характеризуется появлением преимущественно на коже туловища и внутренних поверхностей конечностей фолликулярных острокожных папул, покрытых плотными роговыми шипиками. Выявляют также два других варианта фолликулярной формы КПЛ: фронтальную фиброзирующую алопецию (ФФА) и синдром Литтла-Лассюэра-Пикарди. При ФФА наблюдаются симметричное прогрессирование рецессии волос с формированием рубцовой алопеции передней линии роста волос во фронтальной и височных областях, а также возможное вовлечение в процесс бровей.

Синдром Литтла-Лассюэра-Пикарди относится к рубцовым алопециям, при которых одновременно определяется характерная триада: рубцовая алопеция волосистой части головы, нерубцовая алопеция подмышечных и паховых областей, фолликулярные папулы. Наличие всех трех признаков для постановки диагноза необязательно, но два симптома встречаются наиболее часто – фолликулярные папулы на коже и рубцовая алопеция на волосистой части головы [4]. Симптомокомплекс был описан впервые Пикарди Лассюэром в 1913 г. Спустя время, в 1915 г., Грахам Литтл также опубликовал подобный случай. У таких больных одновременно обнаруживают типичные высыпания красного плоского лишая, острокожные высыпания типа шиповидного лишая на коже живота и грудной клетки, конечностей и участки псевдопеллады на волосистой части головы. При проведении гистологического исследования данных поражений кожи подтверждается картина красного плоского лишая [5]. Дебютирует заболевание зудом и возникновением лихеноидных высыпаний; течение длительное, часто затяжное, приводящее к возникновению рубцовой атрофии кожи. Встречается синдром Литтла-Лассюэра-Пикарди в любом возрасте, но гораздо чаще отмечают у людей старшей возрастной группы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами представлено описание редкого клинического случая синдрома Литтла-Лассюэра-Пикарди.

В 2021 г. на кафедре дерматовенерологии клиники Петра Великого обратилась пациентка К., 48 лет, с жалобой на выраженное поредение волос кожи волосистой части головы, которое сопровождалось незначительным зудом и шелушением.

Женщина считала себя больной с марта 2020 г., когда впервые отметила поредение волос в теменной области, сопровождающееся шелушением. Обратилась в КВД по месту жительства, где был поставлен диагноз «микоз кожи волосистой части головы». Со-

скоб на микроскопию и посев на микромицеты были отрицательными. Назначенная терапия с применением шампуня с кетоконазолом выраженного эффекта не дала.

В ноябре 2020 г. пациентка стала отмечать появление высыпаний, а также распространение очагов поредения по теменно-затылочной области. В связи с этим обратилась в частную клинику. Осмотрев кожу волосистой части головы, дерматолог поставил предварительный диагноз «себорейный дерматит?». Для его лечения были назначены внутрь: «Солгар Тройная омега-3» или рыбий жир с учетом массы тела, Цитросепт – по 20 кап. в сутки 2 недели, витамин D3K2 – 1 раз в сутки в дозировке 10000 МЕ в течение 1 мес., далее – 5000 МЕ. Наружно рекомендовано: шампунь «Кето+» – 3 раза в неделю с экспозицией 5 минут, а также офломикол р-р – втирать ежедневно в область высыпаний. Для лечения алопеции назначен прием «Нуркрин для мужчин», наружно в область макушки – «Микроксидил Оптима». Рекомендовано лабораторное обследование: общий анализ крови, биохимический анализ крови (АЛТ, АСТ, щелочная фосфатаза, креатинин), гормоны щитовидной железы, половые гормоны. Пациентка получала терапию в полном объеме, эффекта не отмечала. Показатели клинического и биохимического анализов крови, гормоны щитовидной железы были в пределах референсных значений.

Процесс на коже теменно-затылочной области прогрессировал и формировал большие площади поредения волос. В связи с этим в середине февраля 2021 г. больная обратилась на повторную консультацию к специалисту, где был поставлен диагноз «псориаз волосистой части головы», назначен «Ксамиол» гель – 1 раз в сутки и шампунь «Этривекс» – 3 раза в неделю в течение 1 месяца с последующим постепенным уменьшением кратности применения данных лекарственных препаратов. На фоне проводимого лечения в течение 2 месяцев высыпания несколько побледнели, но волосы значительно поредели в центральной части головы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В июне 2021 г. пациентка К. обратилась на прием. С ее слов, в сентябре 2020 г. перенесла COVID-19 в средней степени тяжести с поражением легких 45%, уровень оксигенации при пульсоксиметрии достигал цифр 91-92. Лечение проходило в домашних условиях.

При тщательном осмотре всех кожных покровов выявили, что процесс на коже носил распространенный симметричный характер с поражением кожи волосистой части головы, а также кожи подмышечных впадин (Рис. 1, 2) и лобка (Рис. 3).



Рис. 1, 2. Нерубцовая алопеция подмышечных впадин с обеих сторон.



Рис. 3. Нерубцовая алопеция паховой области с фолликулярными папулами.

На коже теменно-затылочной области располагалось большое количество фолликулярных папул розовато-красного цвета, округлых форм, размерами 1-3 мм в диаметре; белесоватые чешуйки; единичные фолликулиты округлых форм, около 3 мм в диаметре, с перифокальной гиперемией, а также очаги рубцовой алопеции (Рис. 4, 5).



Рис. 4, 5. Кожа теменно-затылочной области: большое количество фолликулярных папул розовато-красного цвета округлых форм.

В области аксиллярных впадин и лобка – фолликулярные папулы конической формы, до 3 мм в диаметре, розоватого цвета с цианотичным оттенком, а также очаги нерубцовой алопеции.

Проведена дерматоскопия: отмечается отсутствие фолликулярных отверстий, визуализируются многочисленные ветвящиеся и извитые сосуды, красные точки, вокруг большинства фолликулов – перифолликулярная эритема и обилие чешуек, белые пустоты, единичные белые точки и линейные фиброзные тяжи (Рис. 5, 6).

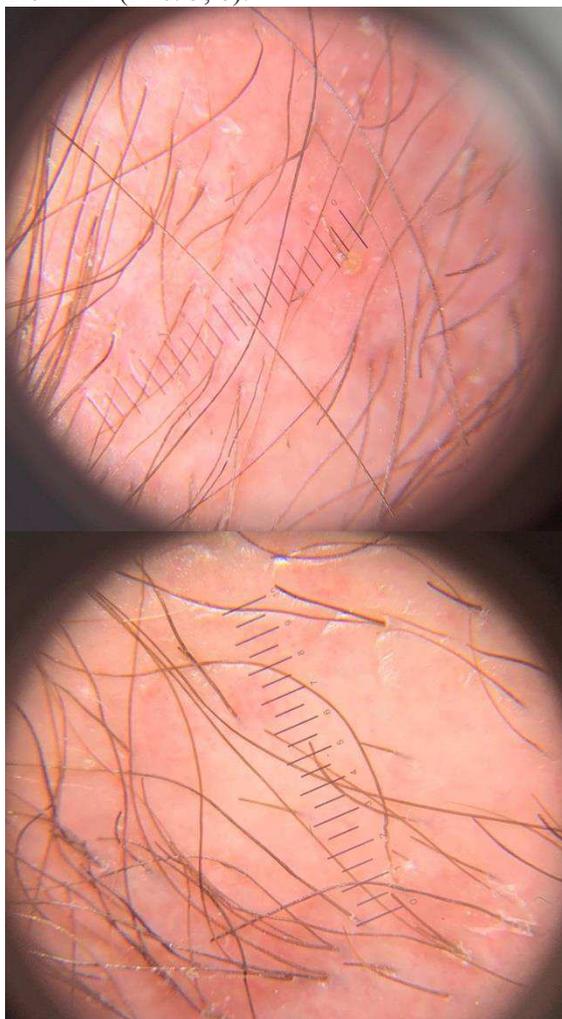


Рис. 5, 6. Дерматоскопия волосистой части головы.

Выполнена биопсия кожи с целью последующего гистологического исследования. В биоптате площадью 36 мм² 53 среза волос (5 – в стадиях катаген/телоген (9,4%), 2 – веллосных), толщиной 70-130 мкм, с перифолликулярной лимфоцитарной инфильтрацией, проникающей местами в эпителий, выраженным концентрическим перифолликулярным фиброзом, «отодвигающим» воспалительный инфильтрат, формированием щелей между фолликулярным эпителием и стромой (пространства Макс-Джозефа), слиянием 3-4 фолликулов; фолликулярный эпителий с гипотрофией и неравномерной атрофией в относительно сохранившихся фолликулах – с гранулезом (Рис.7, 8). Эпидермис местами истончен с паракератозом, внутриклеточным отеком

базальных и шиповатых клеток, небольшим акантозом, в дерме – периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация. PAS-позитивные изменения соединительнотканых волокон не выявлены. Заключение: гистологическая картина больше соответствует фолликулярной форме красного плоского лишая.

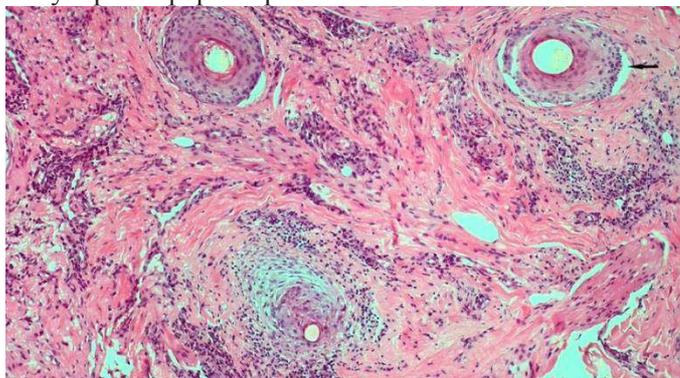


Рис. 7. Фолликулярная форма красного плоского лишая: «размытие» базальной мембраны, формирование эпидермальных щелей (пространства Макса-Джозефа обозначены стрелкой); ув. X100, окраска гематоксилином и эозином.

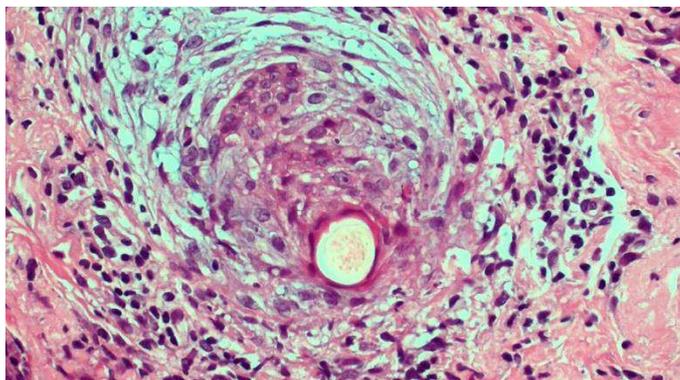


Рис. 8. Повреждение волосяного фолликула: «размытие» базальной мембраны, экзоцитоз лимфоцитов; ув. X400, окраска гематоксилином и эозином.

На основании жалоб, анамнеза, клинической картины заболевания, а также результатов дерматоскопии и патоморфологического исследования пациентке К. поставлен диагноз редкой фолликулярной формы красного плоского лишая – синдром Литтла-Лассюэра-Пиккарди.

Проводимое лечение: преднизолон внутрь – 20 мг в сутки в течение 2 недель с последующей постепенной отменой, аскорутин – по 1 таблетке 3 раза в

день в течение 1 месяца, кальция глюконат 10% – 10 мл внутривенно струйно медленно 10 дней. После терапии преднизолоном, на основании заключения офтальмолога и терапевта, был рекомендован прием плаквенила – 200 мг 2 раза в день пятидневными курсами с двухдневным перерывом на протяжении 1 месяца; наружно: Мометазон лосьон ежедневно на ночь, в область гнойничков рекомендовано использование р-ра Зеркалина.

В результате проведенного лечения наблюдали разрешение высыпаний на коже в области волосистой части головы, а также аксиллярных впадин и лобка, на коже волосистой части головы сохранялась рубцовая атрофия, на коже в области подмышечных впадин и лобка возобновился рост волос.

ВЫВОДЫ

Синдром Литтла-Лассюэра-Пиккарди является одной из редко встречающихся фолликулярных форм красного плоского лишая, поэтому проведение дифференциальной диагностики вызывает множество трудностей при постановке верного диагноза данного заболевания.

Позднее обращение пациентов, ошибки в постановке диагноза, неправильно назначенная терапия в большей мере приводят к распространению процесса на коже, увеличению очагов рубцовой алопеции, усилению интенсивности зуда, что значительно ухудшает качество жизни пациентов.

При постановке диагноза красного плоского лишая дерматологами и трихологами необходимы тщательный сбор жалоб и анамнеза заболевания, полноценный осмотр всех кожных покровов, слизистых оболочек, волос и ногтевых пластин.

В представленном нами клиническом случае синдром Литтла-Лассюэра-Пиккарди сопровождался характерной для него триадой симптомов: рубцовой алопецией волосистой части головы, нерубцовой алопецией подмышечных и паховых областей, фолликулярными папулами.

Не менее важным в данном случае было проведение дерматоскопии и гистологического исследования, подтверждающих диагноз фолликулярной формы красного плоского лишая.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Le Cleach L., Chosidow O.* Lichen planus. N. Engl. J. Med. 2012; 366: 723-732 doi: 10.1056/NEJMcp1103641
2. *Адашкевич В.П.* Редкие синдромы и атипичные формы красного плоского лишая. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет. Беларусь. 2020. [Adaskevich U.P. Rare syndromes and atypical forms of lichen planus. Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University. Belarus. 2020. (In Russ)]. doi: 10.37963/SMA.2020.4.163
3. *Бутов Ю.С., Васенова В.Ю., Анисимова Т.В.* Клиническая дерматовенерология. Под ред. Скрипкина Ю.К., Бутова Ю.С. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013; 896 с. [Butov Yu.S., Vasenova V.Yu., Anisimova T.V. Clinical dermatovenerology. Skripkin Yu.K., Butov Yu.S., editors. Moscow: GEOTAR-Media. 2013; 896 p. (In Russ)].
4. *Меснянкина О.А., Янчевская Е.Ю., Волик А.П. и др.* Синдром Грэма-Литтла-Пиккарди-Лассюэра. Российский журнал кожных и венерических болезней. 2016; 19 (1): 21-23. [Mesnyankina O.A., Yanchevskaya E.Yu., Volik A.P.,

et al. Graham-Little-Piccardi-Lassueur Syndrome. Russian Journal of Skin and Venereal Diseases. 2016; 19 (1): 21-23 (In Russ)].

5. Слесаренко Н.А., Утц С.Р., Бакулев А.Л. и др. Случай сочетания шиповидного фолликулярного кератоза Крокера-Адамсона, красного плоского лишая и синдрома Литтла- Лассюэра у юноши 17 лет. Вестник дерматологии и венерологии. 2014; 90 (4): 68-74. [Slesarenko N.A., Utz S.R., Bakulev A.L., et al. A case of a combination of Crocker-Adamson follicular spinulosa, lichen acuminatus and Little-Lassueur syndrome. Bulletin of dermatology and venereology. 2014; 90 (4): 68-74 (In Russ)]. doi.org/10.25208/0042-4609-2014-90-4-68-74

Поступила в редакцию журнала 24.02.2022

Рецензент: Л.П. Котрехова

АННОТАЦИЯ MALDI-МАСС-СПЕКТРОВ КЛЕТОЧНОЙ БИОМАССЫ ШТАММОВ *CANDIDA ALBICANS* BERKHOUT

¹Рябинин И.А. (н.с., ассистент кафедры) *,
²Сальникова В.А. (врач-стажер), ¹Васильева Н.В. (директор НИИ, зав. кафедрой)

¹Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, кафедра медицинской микробиологии, Санкт-Петербург; ²Городская больница №1 им. Н.И. Пирогова, Севастополь, Россия

В работе представлены данные сравнения масс-листов, получаемых благодаря MALDI-TOF-масс-спектрометрии клеточной биомассы *Candida albicans*, а также результаты аннотации MALDI-масс-спектров, в которой найдены соответствия между белками и пептидами из протеома данного микроорганизма и отдельными пиками. Исследовали 12 штаммов *C. albicans* клинического происхождения. Показано, что штаммы *C. albicans* имеют различающиеся масс-листы и, как следствие, различающиеся по набору группы спектрообразующих белков и пептидов. Изучены особенности аминокислотного состава этих соединений, показано их своеобразие в сравнении с аминокислотной композицией целой дрожжевой клетки. Отличительные особенности представленной работы в сравнении с ранее опубликованными сообщениями по данному направлению: (1) использование не только коллекционных штаммов, но и первичных изолятов, (2) аннотирование масс-спектров из культур нескольких штаммов с последующим сопоставлением. В работе обоснована возможность применения MALDI-TOF-MS для внутривидового типирования *C. albicans*, а также опосредованно – в исследовании различий штаммов по выраженности факторов вирулентности. Найдены белки, уникальные для *C. albicans* и перспективные, таким образом, как «мишени» в создании тест-систем некультуральной диагностики инвазивного кандидоза.

Ключевые слова: аннотация, белки и пептиды, инвазивный кандидоз, протеомика, *Candida* spp., *C. albicans*, MALDI-TOF-масс-спектрометрия

ANNOTATION OF MASS-SPECTRA OF CELLULAR BIOMASS FROM *CANDIDA ALBICANS* BERKHOUT STRAINS

¹Ryabinin I.A. (scientific researcher, assistant

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

of the department), ²Salnikova V.A. (trainee doctor), ¹Vasilyeva N.V. (director of the Institute, head of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov: Kashkin Research Institute of Medical Mycology, St. Petersburg; Department of Medical Microbiology, ²City Hospital №1 named after N.I. Pirogov, Sevastopol, Russia

The report presents data of comparison of the mass-lists obtained by MALDI-TOF mass-spectrometry of *Candida albicans* cell biomass, as well as the results of the annotation of MALDI-mass-spectra, in which correspondences between proteins and peptides from the proteome of this micromycete and individual peaks were found. 12 strains of *C. albicans* of clinical origin were studied. It was shown that *C. albicans* strains have different mass-lists and, as a result, different groups of specter-forming proteins and peptides. The features of the amino acid composition of these compounds have been studied, their originality has been shown in comparison with the amino acid composition of the whole yeast cells. The distinctive features of the presented work in comparison with previously published reports in this area were: (1) the use of not only collection strains, but also primary isolates, (2) annotation of mass-spectra from cultures of several strains with subsequent comparison. The report substantiates the possibility of using MALDI-TOF-MS for intraspecific typing of *C. albicans*, as well as indirectly – in the study of strain differences in the expression of virulence factors. Proteins unique to *C. albicans* and therefore promising as «targets» for the creation of test-systems for non-cultural diagnostics of invasive candidiasis have been found.

Key words: annotation, proteins and peptides, invasive candidiasis, proteomics, *Candida* spp., *C. albicans*, MALDI-TOF mass-spectrometry

ВВЕДЕНИЕ

Инвазивный кандидоз (ИК) на настоящий момент остаётся наиболее частой в практике системной инфекцией, вызванной условно-патогенными грибами. Именно для ИК, по сравнению с другими оппортунистическими микозами, характерна самая большая группа риска среди пациентов стационаров [1]. Несмотря на то, что в последние годы многие авторы все чаще сообщают о тенденции к возрастанию доли в структуре возбудителей обширной группы *Candida non-albicans*, *C. albicans* остаётся лидирующим по частоте возбудителем ИК [2]. Это положение можно объяснить двумя фактами. Во-первых, *C. albicans* – наиболее частый колонизатор кишечника человека среди микроскопических грибов, а именно кишечник считают основным эндогенным источником возбудителя, наряду с возможностью внедрения с наружных покровов через сосудистый катетер [3]. Кроме того, при развитии иммуносупрессии *C. albicans* способна воздействовать на организм хозяина наиболее широким «арсеналом» факторов вирулентности. К таким факторам и комплексам факторов относят: продукцию аспартиловой протеазы не-

скольких изоформ; наличие гемолизина – «кандидализина»; выделение фосфолипаз; широкий температурный оптимум – адаптация при нормальной и фебрильной температуре тела человека; комплекс адгезинов; антиоксидантную систему; способность к образованию биопленок; синтез эндогенных нитрозаминов; выделение ингибиторов тромбоцитарных антимикробных пептидов; наконец, возможность образования элементов истинного мицелия и псевдомицелия, которые облегчают развитие ангиоинвазии [3, 4]. Ни один другой возбудитель микозов не может вызывать столь разнообразные поражения, как *Candida* spp., и *C. albicans* в частности. Именно по совокупности этих фактов *C. albicans* продолжает оставаться актуальным объектом исследования, хотя опыт изучения прикладных аспектов биологии этого микромицета значителен.

Современные отечественные работы по изучению *Candida* spp. связаны в том числе с определением чувствительности возбудителей кандидоза к противогрибковым лекарственным средствам [5-7], ультраструктурой их клеток [8-10], физико-химическими свойствами, выявляемыми с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF-масс-спектрометрии) [11, 12], комплексной характеристикой возбудителей инвазивного кандидоза в клинических и эпидемиологических исследованиях [13, 14].

В настоящее время MALDI-идентификация *C. albicans* не представляет сложностей: базы масс-спектро-профилей достаточно комплекты, культуры данного микроорганизма можно готовить к исследованию методом кислотного травления на мишени или получения клеточного экстракта. Однако отметим, что до сих пор не удаётся достаточно надёжно дифференцировать классический вид *C. albicans* от более редких видов комплекса *C. dubliniensis* и *C. africana*. В частности, у *C. albicans* и *C. dubliniensis* типовые MALDI-масс-спектры отличаются соотношением интенсивности доминантных пиков, но не их композицией.

Разработан оригинальный приём аннотирования MALDI-масс-спектра клеточного экстракта или клеточной биомассы микроорганизма, позволяющий установить конкретные белки и пептиды, формирующие масс-спектр [15]. С биологической точки зрения это определение позволяет понять, какие белки и пептиды доминируют в низкомолекулярной фракции протеома молодой культуры, то есть являются критическими для адаптации микромицета на инициальной стадии роста. С помощью такого подхода аннотированы типовые масс-спектры клеточных экстрактов грибов родов *Aspergillus* и *Penicillium* [16, 17]. Среди возбудителей кандидоза такие данные нами получены для *C. glabrata* [18], но для *C. albicans* составлена только краткая сводка, опублико-

ванная в виде предварительного сообщения [19].

Цель работы: составить подробную аннотацию MALDI-масс-спектра биомассы клеток молодых культур *C. albicans*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы *C. albicans*. В исследование включили штаммы из Российской коллекции патогенных грибов РКПГ Y-463 (в двух независимо исследованных субкультурах), РКПГ Y-1059 и РКПГ Y-1274, а также штаммы 159ser, 228, 325, 329, 1112, 1118, 1140, 1442, 162, выделенные из биоматериалов человека в отделении лабораторной диагностики микологической клиники СЗГМУ.

Съемка масс-спектров и видовая идентификация штаммов. Штаммы из РКПГ Y-463, Y-1059 и Y-1274 перед исследованием культивировали на плотной среде Сабуро в модификации Эммонса при 35 °С 24 ч, затем из полученной биомассы получали экстракт по стандартной процедуре, как описано ранее [11, 12]. Экстракт наносили в объеме по 2 мкл на позиции масс-спектрометрической мишени MTP 384 target plate polished steel BC и высушивали под тягой. Остальные штаммы исследовали как первичные изоляты из клинического материала, полученные на различных плотных средах (агар Сабуро, кровяной агар, среде «UriSelect4»). Их биомассы обрабатывали на мишени ранее успешно использованным методом «двойного кислотного травления», который был нами применен для *Cryptococcus neoformans* [20]. Подготовленные экстракты и клетки на мишени покрывали насыщенным при комнатной температуре раствором MALDI-матрицы «HCCA» (4-гидроксикоричной кислоты) в растворителе «OS» (Bruker Daltonik GmbH, Германия) по 2 мкл на позицию и сушили под тягой. Далее выполняли масс-спектрометрическую съемку на инструменте Autoflex speed TOF/TOF с пакетами программного обеспечения flex и MALDI Biotyper (Bruker Daltonik) в режиме «MBT».

Видовую идентификацию полученных масс-спектров провели в MALDI Biotyper OS путем сравнения с «библиотекой» типовых масс-спектро-профилей Bruker Taxonomy. В дальнейшее исследование включали только масс-спектры, идентифицированные с установленными производителем показателями достоверности Score Value \geq 2,0 и категорией идентификации «А».

Сравнительный анализ масс-листов. Масс-листы сгенерированы во flexAnalysis и переведены в LibreOffice Calc, где для групп пиков по величинам m/z введены «точки сравнения» – условные значения на шкале m/z, представленные для более наглядного сравнения масс-листов различных штаммов между собой. Сопоставление «точек сравнения» проведено графическим путем с помощью редактора Paint.

Аннотирование MALDI-масс-спектров выполнено по ранее разработанному и описанному алгоритму [15-18], который в кратком изложении включает следующие этапы: получение масс-листа во flexAnalysis, поиск соответствий по параметрам пиков в TagIdent с применением биоинформационных баз UniProt и TrEMBL, выкопировку данных о конкретном белке или пептиде в UniProt и связанных ресурсах.

Определение особенностей аминокислотного состава белков и пептидов, образующих MALDI-масс-спектр, выполнено согласно ранее использованному подходу [21] по формуле:

$$Y = \frac{X_{ak} * 100\%}{\sum_{n_{min}}^{n_{max}} n_i}$$

где n_i – количество аминокислотных остатков в конкретном полипептиде, X_{ak} – общее количество конкретных аминокислотных остатков во всех спектрообразующих полипептидах, Y – среднее содержание (в %) конкретного аминокислотного остатка в последовательности одного типичного спектрообразующего полипептида. Вывод формулы для краткости не приводим. Допустимость такого расчета и репрезентативность показателя Y определяется тем, что при MALDI-ионизации в заданном режиме и с использованием выбранной матрицы образуются ионы не любых белков и пептидов с M_r в интервале

2-20 kDa, а только тех веществ данной группы, которые наиболее эффективно экстрагируются при кислотном травлении клеточной биомассы и лидируют при взаимодействии с возбужденными молекулами матрицы. Косвенно данное явление подкрепляется тем фактом, что матрица «НССА» ионизирует белки и пептиды различных масс в интервале детекции неравномерно, то есть максимальной интенсивности пики MALDI-масс-спектра достигают на определенном интервале, как это часто бывает видно при работе с материалом колоний микромицетов [22]. Для подтверждения этого явления в случае с выбранным объектом изучения строили диаграмму распределения выявленных спектрообразующих полипептидов по предполагаемым величинам M_r .

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основные результаты исследования в кратком виде показаны в таблице 1 и на рисунке 1. Из MALDI-масс-спектров биомассы клеток *C. albicans* с использованием стандартного критерия включения (отношение интенсивности ионного тока «сигнал : шум» $S : N \geq 3$) получают масс-листы, включающие в среднем 55 ± 3 пика (в формате $M \pm m$). Для сравнения масс-листов всех изученных штаммов выбрали следующие условные точки: 2; 2,1; 3; 3,3; 3,4; 5,1; 6; 6,1; 6,2; 6,4; 6,6; 6,9; 7; 7,1; 7,2; 8,7; 9,5; 10; 10,3; 10,4 kDa (всего 20).

Таблица 1

Сводная аннотация MALDI-масс-спектра клеточной биомассы штаммов *C. albicans*

M/Z пиков		Параметры белков и пептидов			Наличие пика в масс-спектрах штаммов <i>C. albicans</i>			
Условное маркерное значение	M/Z пика	M_r белка	N a/k	Название или номер последовательности	159 ser	228	325	329
2400	2407.931	2242	23	A0A0A3DN99	—	—	—	+
3000	3029.455	3086	32	A0A0A3CD31	+	+	+	+
	3098.693	3169	31	A0A0A4BW91	+	+	+	+
3200	3235.663	3243	31	A0A0A4A4A5	—	+	+	—
3300	3379.144	3382	32	Нуклеокапсид-подобный пептид, несущий домен типа «цинкового пальца», вероятный фактор вирулентности	+	+	+	—
3400	3443.915	3443	34	A0A0A4AEA2	+	—	—	+
	3453.374	3465	31	A0A0A4АНК6	+	+	+	+
	3472.576	3483	35	Металлотионеин, способный к захвату ионов меди	+	—	+	—
	3490.230	3491	31	A0A0A6M6M5	+	+	+	+
3500	3512.288	3512	33	A0A0A3E3S0	—	+	+	+
3100	3519.857	3538	33	A0A0A3ZW05	—	—	—	+
4800	4821.382	4963	45	A0A0A3CX92	—	—	+	—
5100	5191.507	5193	49	A0A0A3CRF0	+	+	+	—
5400	5472.240	5473	52	A0A0A3BK04	—	—	+	—
5900	5998.960	6009	54	Фосфопантотеноилцистеин-декарбоксилаза	—	+	+	+
6000	6020.836	6028	53	A0A0A6IK05	+	—	+	—
	6034.897	6036	53	A0A0A3BQR2	—	+	—	—
	6064.456	6067	55	A0A0A4CE13	+	+	+	+
	6084.579	6086	54	A0A0A6IGZ7	+	—	+	—
	6090.784	6090	55	Трансмембранный белок	—	+	—	—

6100	6105.876	6107	58	A0A0A3C9Z1	—	—	+	+
	6119.274	6122	58	Трансмембранный белок	+	+	+	—
	6127.253	6128	58	Сериновая/треониновая протеинкиназа (предположительно). Участвует в эндоцитозе сфинголипидов	+	+	—	—
	6147.614	6149	56	Трансмембранный белок	—	—	+	—
	6146.193	6146	53	A0A0A6ME05	—	+	+	—
	6158.639	6160	57	A0A0A3CEV6	+	—	—	—
	6162.525	6163	56	«Фактор инвазивного роста филаментов и гомеостаза клеточной стенки»	—	+	+	—
	6189.999	6189	56	A0A0A3D850	—	—	+	+
	6190.122	6190	57	A0A0A3C8A7	—	+	—	—
6200	6201.554	6204	65	A0A0A3C7F2	+	+	+	+
	6222.561	6222	56	A0A0A3BKU3	+	—	—	—
	6225.310	6228	56	A0A0A3DKB0	—	+	+	+
	6241.279	6246	52	C4YQF5	+	—	—	—
	6263.895	6264	56	Трансмембранный белок	+	—	—	—
	6266.649	6274	52	A0A0A3CDH3	—	+	+	—
6300	6360.364	6366	57	A0A0A3DIZ1	—	—	—	+
6400	6443.670	6447	58	A0A0A3DGF1	—	—	+	—
	6472.218	6481	61	A0A0A6KVV1	+	+	+	+
	6496.663	6498	60	Белок, индуцируемый биопленкой. Трансмембранный белок	+	+	+	—
6500	6511.738	6537	61	Трансмембранный белок	—	+	+	+
	6558.030	6558	60	A0A0A6KHQ1	—	+	—	—
	6571.332	6576	61	Гликофосфатидилинозитол-заякоренный белок (предположительно)	—	+	—	—
6600	6620.114	6628	63	Долихил-дифосфолигосахарид-протеин-гликозилтрансфераза	+	+	+	—
	6622.945	6628	57	A0A0A4BPA1	—	—	—	+
	6664.578	6668	60	A0A0A3DZN1	—	+	+	+
6700	6788.699	6788	64	A0A0A6LDA9	—	—	—	+
6800	6810.870	6810	67	A0A0A3BHL8	—	—	+	—
	6814.214	6815	64	A0A0A6K4T7	—	+	—	—
	6843.334	6845	62	A0A0A3CCV7	—	—	+	—
	6847.951	6851	67	A0A0A3ZQ70	+	—	—	—
6900	6910.129	6913	64	Субъединица 7а цитохром С-оксидазы	+	+	+	+
	6936.028	6936	62	Трансмембранный белок	+	—	—	—
	6940.191	6952	67	A0A0A3CCS0	—	+	+	+
	6983.537	6991	63	A0A0A3CKD2	+	+	+	+
7000	7007.267	7013	64	Фактор сборки цитохром С-оксидазы. Обладает функцией шаперона, способен к захвату ионов меди	+	—	—	—
	7014.922	7020	65	A0A0A3CZL3	—	—	+	—
	7025.437	7032	66	A0A0A6L014	+	+	+	+
	7046.074	7053	65	A0A0A3X901	+	+	+	+
	7064.220	7065	65	A0A0A3C9H1	—	—	+	—
	7068.034	7110	66	Рибосомальный белок S30 (малая 40S субъединица)	—	+	—	—
	7083.852	7112	66	Рибосомальный белок L29 (большая 60S субъединица)	—	+	—	—
	7084.741	7105	65	A0A0A6I360	+	—	+	—
7100	7109.338	7109	62	Белок, репресслируемый фактором транскрипции NarX3p	+	—	+	—
	7121.451	7122	67	A0A0A3X384	—	—	+	—
	7126.252	7140	63	A0A0A6MMI8	+	+	+	+
	7150.150	7165	67	A0A0A6MG99	+	+	+	+
7200	7281.270	7284	63	A0A0A3CD42	—	+	—	+
7500	7571.625	7574	74	A0A0A3COB0	—	+	—	+
7600	7601.841	7614	73	A0A0A3DNC2	—	+	—	—
	7620.820	7623	73	A0A0A3CRL4	—	+	—	—
8000	8764.108	8777	76	Трансмембранный белок	+	+	—	—
9500	9578.964	9583	86	Ингибитор АТФаз	—	+	+	+
9900	9949.096	9968	91	A0A0A3BL59	—	—	+	—

10300	10328.972	10337	103	A0A0A4B8P0	—	—	+	—
	10379.787	10379	87	A0A0A6JCL3	+	—	—	—
	10383.855	10383	278	A0A0A3CHF9	—	—	—	+
	10384.233	10387	87	A0A0A3BQ50	—	+	+	—
10400	10404.246	10404	94	Трансмембранный белок	—	—	+	—
	10412.060	10412	95	Трансмембранный белок	+	—	—	—
	10424.935	10429	92	Фактор сплайсинга пре-мРНК	—	—	+	—
15100	15135.580	15136	257	Трансмембранный белок	—	+	—	—

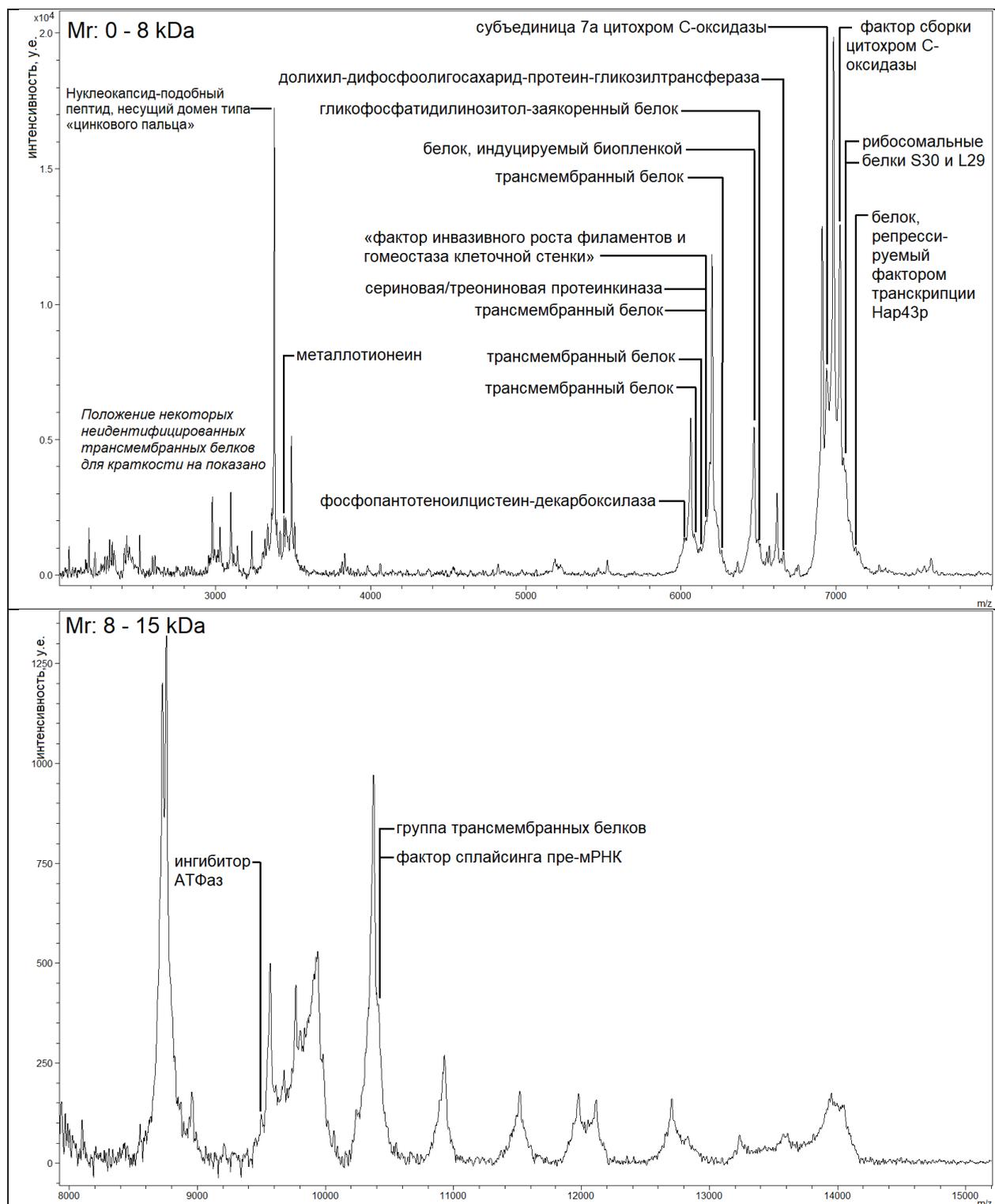


Рис. 1. Совмещение данных аннотации и MALDI-масс-спектров клеточной биомассы *Candida albicans* (схематизировано). Некоторые белки с близко расположенными пиками на схеме не разнесены.

Как оказалось в результате анализа масс-спектров по позициям групп пиков, соответствующих конкретным «точкам сравнения», часто имеются различающиеся положения в масс-листах (для краткости таблица сравнения не показана). Это связано с тем, что у одних штаммов определённые пики присутствуют в композиции масс-спектра, у других – отсутствуют. Так, пики, соответствующие «точкам сравнения» 2; 3,4; 6,1; 6,6; 6,9; 7; 7,1 kDa, имеются у всех изученных штаммов, а «точки сравнения» 2,1; 3; 3,3; 5,1; 6; 6,2; 6,4; 7,2; 8,7; 9,5; 10; 10,3; 10,4 kDa – только у масс-спектров отдельных штаммов. Так, например, точка 10,4 kDa прослеживается в масс-листах (масс-спектрах) штаммов *C. albicans* 325, РКПГ Y-463, Y-1059, 1112, 162 и 1103, а точка 7,2 kDa – только в масс-спектрах штаммов *C. albicans* РКПГ Y-463 и 1112. Данный феномен может быть обусловлен двумя обстоятельствами: (1) особенностями клеточной стенки культуры в конкретных условиях её получения, что влияет на результат пробоподготовки; (2) концентрациями конкретных метаболитов, образующих переменные пики. Оба этих обстоятельства могут иметь в основе как фенотипические, так и генотипические механизмы изменчивости. В аспекте практического применения обнаруженного феномена можно предположить, что при культивировании серии штаммов *C. albicans* в идентичных условиях и использовании данных MALDI-масс-спектров станет доступным внутривидовое типирование этого микромицета.

Для аннотирования MALDI-масс-спектров выбранные результаты съемки, проведенные с материалами штаммов *C. albicans* 159ser, 228, 325 и 329. Неидентичность масс-листов приводит к получению несколько различающихся аннотаций MALDI-масс-спектров, как это видно в таблице 1, правая часть. Большая часть пиков масс-спектра у *C. albicans* поддается аннотации, однако спектрообразующие пептиды и белки в значительном количестве еще не снабжены подробными описаниями. Следующие компоненты, образующие MALDI-масс-спектр, удалось идентифицировать.

Нуклеокапсидноподобный пептид, несущий домен типа «цинкового пальца», – пептид из 30 аминокислотных остатков; гомологичные ему последовательности имеются в структуре значительно более крупных белков микромицета *Piromyces finnis* и некоторых бактерий (*Lacipirellula parvula*, *Limnoglobus roseus*, *Fimbrioglobus ruber* и других представителей семейства *Planctomycetaceae*). Эти белки являются ДНК-гликозилазами, связанными с репарацией ошибочно спаренных нуклеотидов.

Примечательно, что аналогичные высокоинтенсивные пики пептида, имеющего конфигурацию типа «цинкового пальца», обнаружены нами и при аннотировании MALDI-масс-спектра *Aspergillus* spp.

Металлотионеин Cup1p, связывающий ионы

Cu^{+2} у *C. albicans*, гомологичен фрагменту металлотионеина *C. maltosa*.

Сериновая/треониновая протеинкиназа в протеомах других микромицетов сходна немногим более 40% с белками неизвестной функции *Scleroderma citrinum* и *Colletotrichum tanacetii*.

Фрагмент белка, индуцируемого биопленкой, имеет отдаленные гомологи у так называемого беловатого трюфеля (*Tuber borchii*) и представителей рода *Podospora*. У *P. comata* более крупный гомолог обладает гликозид-гидролазной активностью. У *C. albicans*, исходя из функциональных особенностей, данный пептид образуется при деградации предшественника из 132 аминокислот, который, вероятно, участвует в ремоделировании клеточной стенки у делящихся и растущих клеток, а также при образовании истинных гиф и псевдогиф. Последний из указанных процессов необходим для образования биопленок у *Candida* spp. Интересно, что белок-предшественник имеет трансмембранный домен, теоретически он может быть таким образом связан с мигрирующими пузырьками – хитосомами, доставляющими на апекс растущей гифы или филамента мономеры для построения клеточной стенки, а также синтетические и гидролитические ферменты.

Субъединица долихил-дифосфолигосахарид-протеин-гликозилтрансферазы. Данный фермент у *C. albicans* изучен, он участвует в посттрансляционной модификации некоторых белков. Фермент локализован в шероховатом (гранулярном) эндоплазматическом ретикуломе. Процесс модификации путем N-гликозилирования здесь происходит одновременно с трансляцией: свободная новообразованная цепь белка по соответствующему положению гликозилируется, а часть последовательности еще только синтезируется на рибосоме. По данным UniProt (для последовательности Q9P838 (OST4_CANAX)), фермент непосредственно катализирует перенос олигосахарида Glc3-Man9-GINAc2 с липида долихол-пирофосфата (он служит временным носителем) на остаток аспарагина в белке, который расположен в «мотиве» Asn-X-Ser/Thr. Эта реакция происходит в каналообразующем транслоконовом комплексе. Ранее подобный белок (их для краткости обозначают OST4) обнаружен нами среди спектрообразующих молекул у *Penicillium chrysogenum*. Гомологи данного фермента имеются в протеомах многих дрожжей-аскомицетов рода *Candida* (*C. tropicalis*, *C. viswanathii*, *C. maltosa*, *C. parapsilosis-complex* и других), *Saccharomyces* (*S. eubayanus*, *S. cerevisiae*) и *Lachancea* (*L. quebecensis*, *L. meyersii*).

Субъединица 7a цитохром-С-оксидазы и фактор сборки цитохром-С-оксидазы – высококонсервативные белки, необходимые для осуществления клеточного дыхания, ранее были выявлены нами также в составе спектрообразующих молекул у *Aspergillus* spp.

Рибосомальные белки S30 (малой 40S субъединицы) и L29 (большой 60S субъединицы) – необходимые структурные элементы для процесса биосинтеза белка, также довольно консервативные. Они относятся к наиболее рано известным компонентам, образующим MALDI-масс-спектр у микроскопических грибов и бактерий.

Пептид, репрессуемый фактором транскрипции Нар43p. Функция его у *C. albicans* не определена. Среди грибов единственный известный гомолог найден у представителя семейства кикселловых *Linderina pennisporea*, он имеет 2 трансмембранных домена.

Фрагмент фосфопантотеноилцистеин-декарбоксилазы – один из ферментов системы биосинтеза коэнзима А, катализирует промежуточную реакцию, которая имеет следующий вид: (R)-4'-фосфопантотениол-L-цистеин ↔ патентин-4'-фосфат +CO₂. У *C. albicans* детектируемый пептидный фрагмент этого фермента уникален (целая молекула имеет протяжённость более 700 аминокислот), не имеет гомологов у других микромицетов.

Фактор инвазивного роста филаментов и гомеостаза клеточной стенки – уникальный белок *C. albicans*. У других микромицетов (*Byssothecium circinans*, *Cytospora leucostoma* и *Antrodiaella citrinella*) имеются отдаленно гомологичные последовательности в составе более крупных белков. Примечательно, что один из гомологов у *A. citrinella* несет довольно крупный домен РН (домен гомологов плекстрина, англ. «Pleckstrin Homology»), специфичный для внутриклеточных белков, участвующих в «каскадах» передачи сигнала и регулирующих работу цитоскелета. В группу белков с РН-доменом относят очень разнообразных в функциональном отношении представителей, которые при функционировании могут взаимодействовать с самыми разнообразными субстратами: фосфорилированными остатками некоторых аминокислот в структуре белков (серином, треонином), фосфорилированными липидами, гетеродимерными G-белками, цитоплазматической мембраной. У *B. circinans* крупный белок-гомолог также обладает сигнальной функцией – несет характерный домен ГТФазы («Dynamitin-type G»).

Гликофосфатидилинозитол-заякоренный белок – элемент, который участвует в прикреплении клеточной стенки к цитоплазматической мембране. Помимо структурной функции у *Aspergillus fumigatus*, белок такого типа считают фактором вирулентности. В данном случае обнаруженная у *C. albicans* последовательность специфична только для этого микромицета. У других микромицетов имеются лишь отдаленные гомологи, притом они в 10 и более раз крупнее по протяженности последовательности, чем обнаруженный белок *C. albicans*. Такие гомологи имеют иную функцию – они опосредуют слияние

мембранных органоидов – вакуолей, цистерн Гольджи, различных транспортных пузырьков и др.; встречаются также среди гомологов ацетилтрансферазы аминокислот.

Митохондриальный ингибитор распада АТФ *C. albicans* присутствует в протеомах многих дрожжей-аскомицетов, например, представителей родов *Candida*, *Scheffersomyces*, *Spathaspora*, *Diutina*, *Debaryomyces*, *Suhomyces* и других). Этот белок из *C. albicans* имеет наибольшее сходство с такими же белками из *C. dubliniensis*, *C. maltosa* и *C. viswanathii*. Представители белков этой группы препятствуют распаду АТФ в митохондриях при нарушении протонного градиента, как это бывает, например, в условиях возникшей гипоксии. Большинство этих белков у *Candida* spp. не идентифицированы, но можно предположить, что они необходимы при существовании в условиях микроаэрофильной атмосферы. Некоторые аминокислотные мотивы у найденного белка также близки к белкам митохондриальных рибосом типа S18 у *Candida* spp.

Таким образом, в результате прямого аннотирования MALDI-масс-спектров у штаммов *C. albicans* удается найти соответствие 75% - 96% пиков, что является довольно высоким показателем среди микромицетов. Аннотированию не поддаются в основном пики очень легких пептидов. Это связано с тем обстоятельством, что подобные продукты возникают в ходе ферментативной деградации белков и, используя данные референс-протеомов, их образование очень сложно спрогнозировать. При сопоставлении реального положения идентифицированных пептидов и белков с соответствующими им пиками, как это сделано на рисунке 1, оказалось, что проведенный анализ позволил определить состав большинства наиболее высокоинтенсивных комплексов пиков MALDI-масс-спектра, по которым, собственно, проводится видовая идентификация, а неидентифицированные полипептиды связаны преимущественно со множеством пиков более второстепенного значения.

Среди идентифицированных белков и пептидов имеются участники базовых метаболических путей, связанных с пластическими, энергетическими процессами, жизненно необходимыми для существования микромицета, поэтому их высокие концентрации и участие в формировании MALDI-масс-спектра не вызывают вопросов. С другой стороны, среди спектрообразующих молекул существуют и факторы вирулентности – фрагмент белка, индуцируемого биопленкой; фактор инвазивного роста филаментов и гомеостаза клеточной стенки; гликофосфатидилинозитол-заякоренный белок. Возможность детекции таких метаболитов открывает нетривиальные диагностические возможности для MALDI-TOF-MS не только в аспекте быстрой идентификации, но и в плане определения вирулентности выделенного

штамма.

Особенности аминокислотного состава спектрообразующих полипептидов по расчетным данным представлены на рисунке 2. В соответствии с исходным предположением, распределение спектрообразующих полипептидов по массам в диапазоне детекции представляет собой не линейную зависимость, а описывается полиномиальным уравнением 15-ой степени (коэффициент детерминации $R^2=0,99$; для краткости оно не приводится), при этом большинство выявленных полипептидов имеют M_r в диапазоне 6-8 kDa. График длин аминокислотных последовательностей спектрообразующих полипептидов и их частот напоминает нормальное распределение, средняя протяженность полипептидной цепи составляет $64,77 \pm 35,87$ остатков (в формате $M \pm s$). Таким образом, правомерны суждения о «усредненном типичном спектрообразующем полипептиде».

Как видно из диаграммы на рисунке 2, наибольшего содержания в белках и пептидах, образующих MALDI-масс-спектр, достигают лейцин, изолейцин, лизин и серин. 40% состава спектрообразующих белков занято аминокислотами с неполярными (гидрофобными) радикалами, близка по содержанию к ним группа аминокислот с полярными незаряженными радикалами – 36,7%; сравнительно малой долей в структуре отличаются аминокислоты с ионизируемыми радикалами – 15,8% (положительно заряженные) и 7,5% (отрицательно заряженные). Если ранжировать аминокислоты в составе спектрообразующих полипептидов по путям их синтеза, то оказывается, что семейство аспартата (оксалоацетата) занимает 29,3%, семейство пирувата – 25,9%, семейство глутамата (α -кетоглутарата) – 16,3%, семейство серина (3-фосфоглицерата) – 16,1%, условное семейство ароматических аминокислот – 12,4%.

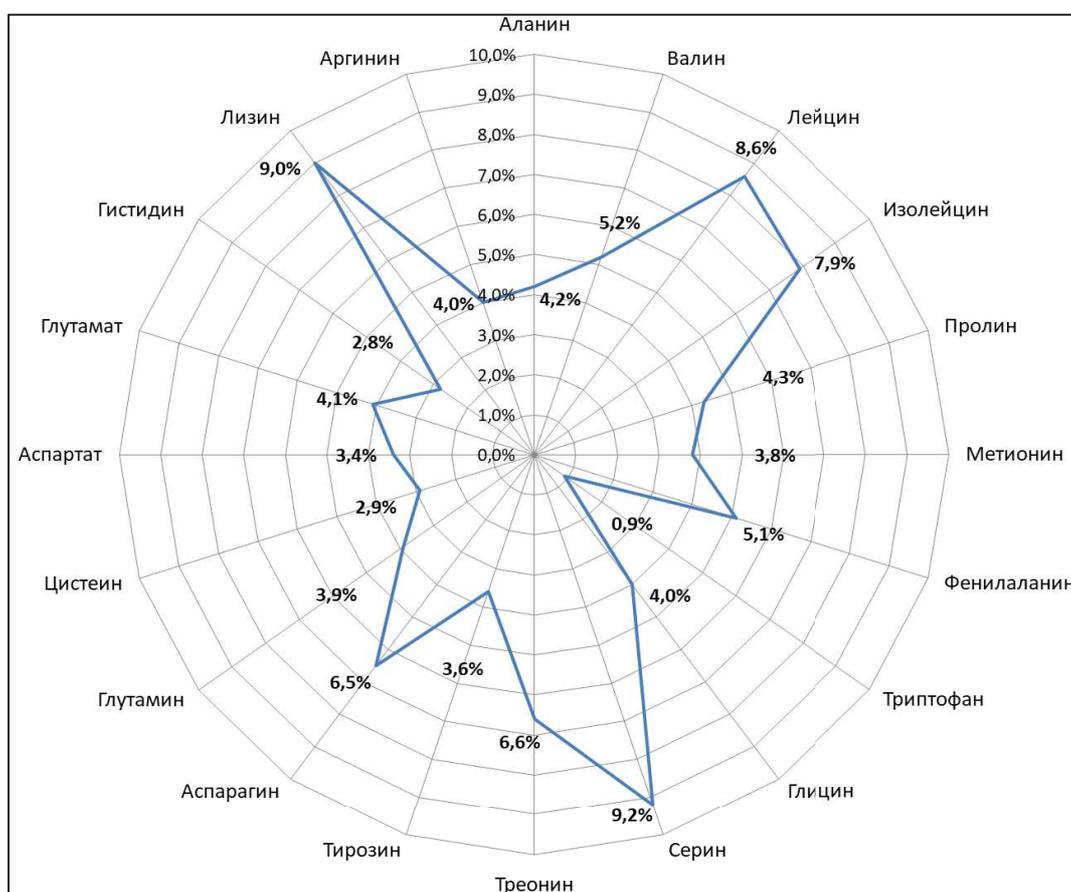


Рис. 2 – «Усредненный» аминокислотный состав типичного спектрообразующего полипептида *C. albicans* по расчетным данным.

Необычным является наличие в структуре ряда спектрообразующих полипептидов **аминокислотных повторов**. Так, например, в пептиде с $M_r=4963$ Da из 42 аминокислот имеется мотив Phe-Phe-Phe-Phe-Phe-Phe-Phe, а также повтор из 5-ти остатков валина. Сериновая/треониновая протеинкиназа *C. albicans* также содержит «пентавалиновый» повтор, кроме того – фрагмент с тремя идущими подряд остатками лейцина. Тирозиновые повторы присут-

ствуют в структуре фактор сплайсинга пре-мРНК и неидентифицированного белка массой 7574 Da; в первом случае имеет место мотив $[Tre]_5$ -Ile- $[Tre]_4$, а во втором – повтор из 12 остатков треонина. Последний из указанных легких белков также примечателен мотивом Leu-Val-Leu-Val-Leu-Val-Leu-Val.

Лейциновые повторы из двух, трех и четырех остатков имеются в белке 6558 Da, как и повтор из трех остатков серина. Тетрасериновые повторы при-

сутствуют у белков массами 6190 и 6788 Da. Долихил-дифосфоолигосахарид-протеин-гликозилтрансфераза имеет необычный мотив Ile-Ile-Leu-Ile-Ile-Ile и повтор из 3-х остатков серина.

Белок 7614 Da несет несколько коротких повторов из остатков тирозина, глутамина, пролина, глицина, серина и цистеина. Гексализиновый фрагмент, наряду с короткими повторами из апарагина и аргинина, входит в состав белка массой 7140 Da. Трансмембранный белок массой 8777 Da обладает повторами из двух и четырех остатков фенилаланина.

Наиболее примечательным по структуре оказался легкий белок массой 6146 Da: 84% его последовательности образовано остатками метионина, аспарагина и лизина, только в N- и C-концах молекулы встречаются остатки изолейцина, тирозина, валина и треонина.

Своеобразие состава спектрообразующих белков и пептидов можно оценить, сравнивая условные рейтинги аминокислот в них с удельным содержанием аминокислот в белковой фракции целой дрожжевой клетки. Хотя протеом *S. albicans* изучен, нам не удалось обнаружить в литературе аминокислотный состав вегетативных клеток *S. albicans*. Однако доступными оказались данные об аминокислотном составе клеток (бластоспор) *Saccharomyces cerevisiae* [23] и хламидоспор *S. albicans* [Jansons V.K., Nickerson W.J. Chemical composition of chlamydospores of *Candida albicans*. J. of Bacteriology. 1970; 104 (2): 922-932]. Как оказалось, лидирующей по содержанию аминокислотой в хламидоспорах *S. albicans* и бластоспорах *S. cerevisiae* оказался аспарат, тогда как в спектрообразующих белках и пептидах бластоспор *S. albicans* аспарат по встречаемости был только на седьмом месте, а лидирующие позиции заняли серин и лизин. В то же время лизин занимает 3-ю позицию в составе белков хламидоспор *S. albicans*, а серин – только 5-ю, в то же время у *S. cerevisiae* данные аминокислоты находятся, соответственно, на 5-ом и 8-ом месте. Сходные аминокислоты с гидрофобными радикалами – изолейцин и лейцин в нашем исследовании вошли в группу доминирующих типов остатков (8,6% и 7,9%), а в белках хламидоспор *S. albicans* и бластоспор *S. cerevisiae* это оказалось не так. Более того, у двух последних объектов эти аминокислоты в рейтинге рассредоточились на разные позиции, несмотря на то, что относятся по происхождению к одной метаболической ветви, а в данном исследовании в рейтинге они следуют одна за другой. В трех сравниваемых исследованиях цистеину соответствовала малая величина содержания. Примечательно, что наиболее редкой аминокислотой в белках *S. cerevisiae* явился треонин, в то же время в спектрообразующих полипептидах *S. albicans* он занимает 5-ое место.

Таким образом, белки и пептиды *S. albicans*, участвующие в образовании MALDI-масс-спектра,

отличаются своеобразным аминокислотным составом, выделяющим их фракцию среди протеома дрожжевой клетки, что подтверждает ранее выдвинутое положение об избирательности MALDI-ионизации кислотно-травленной биомассы клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное аннотирование MALDI-масс-спектров по ряду параметров осуществлено в более совершенном дизайне по сравнению с ранее выполненными работами. Во-первых, для аннотирования на предварительном этапе сделан сравнительный анализ композиции масс-листов нескольких штаммов, во-вторых, сами аннотации MALDI-масс-спектров получены также для нескольких штаммов, что дает более широкие возможности для суждения об индивидуальных штаммовых особенностях и изменчивости грибов этого вида. Третье принципиальное обстоятельство – включение в работу не только типовых коллекционных штаммов, но и материала первичных изолятов, полученных в первой генерации (высеве) непосредственно из биоматериала человека. Клетки в таких культурах потенциально могут сохранять процессы, ранее включенные непосредственно в организме больного и частично сохраненные за счет механизмов эпигенетического наследования. Полученные данные открывают определенные возможности для разработки новых подходов в лабораторной диагностике инвазивного кандидоза и изучении практических важных свойств *S. albicans*.

Интенсивность пиков найденных спектрообразующих пептидов и белков является величиной, пропорциональной их концентрации в исследуемых клетках. Таким образом, становится доступным опосредованный сравнительный анализ штаммов *S. albicans* по экспрессии некоторых факторов, связанных с патогенезом ИК. В дальнейшем развитии данного направления открывается перспектива ориентировочной оценки вирулентности возбудителя ИК данного вида, полученного в культуре от больного, а также и штаммов, циркулирующих в стационаре. Отметим, что экзогенное инфицирование в случаях ИК в стационаре чаще наблюдают с *S. parapsilosis* и *S. auris*, однако вспышки, обусловленные *S. albicans*, также известны [24].

Кроме того, ряд обнаруженных спектрообразующих белков и пептидов высоко специфичны для *S. albicans*, поэтому на их основе принципиально возможно получать меченные антитела для разработки диагностических экспресс-тест-систем. К таким соединениям относятся: пептид, репрессируемый фактором транскрипции Nar43p; фактор инвазивного роста филаментов и гомеостаза клеточной стенки; гликофосфатидилинозитол-заякоренный белок; фрагмент фосфопантотеноилцистеин-декарбоксилазы. На этапе получения моноклональ-

ных антител против указанных соединений, следует заметить, что их аминокислотная последовательность невелика, поэтому для создания антигенного препарата с целью иммунизации лабораторного животного необходимо соединить данные полипептиды с высокомолекулярным носителем. На современном этапе в этой сфере применяют технологию множественных разветвленных пептидов (англ. MAPs, Multiple Antigenic Peptides) или используют дендримерное «ядро» [25, 26].

В дальнейшем представляет интерес определение функциональных свойств тех спектрообразующих белков и пептидов, которые еще не снабжены подробными характеристиками. Подобные данные необходимо дополнять полученными сведениями о низкомолекулярной фракции протеома *C. albicans*, участвующей в формировании MALDI-масс-спектра

культуры.

Благодарности. Коллектив авторов благодарит за предоставление штаммов *C. albicans* заведующую НИЛ Российская коллекция патогенных грибов Г.А. Чилину, а также сотрудников отделения лабораторной диагностики микологической клиники СЗГМУ О.А. Шурпицкую, Н.П. Ремневу, Г.В. Цветкову, В.М. Кашубу. Авторы глубоко признательны Демкиной А.А. за помощь в получении предварительной аннотации масс-спектра *C. albicans*.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Минздрава России «Разработка средств быстрой диагностики тяжелых грибковых инфекций и индикации генетических маркеров устойчивости возбудителей к противогрибковым лекарственным средствам» (2021- 2023 гг.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика. СПб: «Коста», 2010. 224 с. [Elinov N.P., Vasilyeva N.V., Stepanova A.A., Chilina G.A. *Candida*. Candidiasis. Laboratory diagnostics. SPb: «Kosta», 2010. 224 p. (In Russ)].
2. Vasilyeva N.V., Raush E.R., Rudneva M.V., et al. Etiology of invasive candidosis agents in Russia: a multicenter epidemiological survey. *Frontiers of Medicine*. 2018; 12 (1): 84-91. doi: 10.1007/s11684-017-0612-x.
3. Anaissie E.J., McGinnis M.R., Pfaller M.A. *Clinical Mycology E-Book*. Elsevier Inc., 2009: 700 pp.
4. Лунина С.С. *Quinta essentia* о кандидозной лейкоплакии. *Методы науки*. 2017; 5: 58-90. [Lunina S.S. *Quinta essentia* about candidal leukoplakia. *Methods of Science*. 2017; 5: 58-90 (In Russ)].
5. Оганесян Э.Г., Выборнова И.В., Ковыршин С.В. и др. Характеристика штаммов *Candida auris*, выделенных от пациентов с COVID-19, по чувствительности к противогрибковым лекарственным средствам. *Проблемы медицинской микологии*. 2021; 23 (2): 120. [Oganesyanyan E.G., Vybornova I.V., Kovyrshyn S.V., et al. Characterization of antifungal drug susceptibility of *Candida auris* isolates from COVID-19 patients. *Problems in Medical Mycology*. 2021; 23 (2): 120 (In Russ)].
6. Васильева Н.В., Тараскина А.Е., Богомолова Т.С. и др. Формирование резистентности к азолам клинического изолята *Candida auris* – возбудителя кандидемии. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2020; 9 (2(33)): 70-76. [Vasilyeva N.V., Taraskina A.E., Bogomolova T.S., et al. The development of resistance to azoles of the clinical isolates *Candida auris* – the causative agent of candidaemia. *Infectious diseases: news, opinions, education*. 2020; 9 (2(33)): 70-76 (In Russ)].
7. Васильева Н.В., Выборнова И.В., Рауш Е.Р. и др. Определение чувствительности возбудителей инвазивного кандидоза к флуконазолу с использованием дисков различных производителей. *Проблемы медицинской микологии*. 2016; 18 (2): 8-11. [Vasilyeva N.V., Vybornova I.V., Raush E.R., et al. Determination of susceptibility of invasive candidiasis causative agents to fluconazole with using of discs from different manufacturers. *Problems in Medical Mycology*. 2016; 18 (2): 8-11 (In Russ)].
8. Васильева Н.В., Круглов А.Н., Степанова А.А. и др. Цитологические особенности дрожжевых клеток мультирезистентного патогена *Candida auris*. *Проблемы медицинской микологии*. 2018; 20 (3): 3-7. [Vasilyeva N.V., Kruglov A.N., Stepanova A.A., et al. Cytological features of yeast cells of multy-drug-resistant pathogen *Candida auris*. *Problems in Medical Mycology*. 2018; 20 (3): 3-7. (In Russ)].
9. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., и др. Краткий атлас медицински значимых микромицетов рода *Candida*. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2013. 76 с. [Elinov N.P., Vasilyeva N.V., Stepanova N.V., et al. The brief atlas of medical important micromycetes from the genus *Candida*. SPb.: Publishing house of NWSMU n.a. I.I. Mechnikov, 2013. 76 p. (In Russ)].
10. Степанова А.А., Васильева Н.В., Выборнова И.В. и др. Ультраструктура клеток штаммов *Candida albicans* и *Candida parapsilosis*, чувствительных и устойчивых к азолам. *Проблемы медицинской микологии*. 2018; 20 (3): 44-48. [Stepanova A.A., Vasilyeva N.V., Vybornova I.V., et al. Ultrastructure of cells of *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* strains resistant and susceptible to azoles. *Problems in Medical Mycology*. 2018; 20 (3): 44-48 (In Russ)].
11. Рауш Е.Р., Васильева Н.В., Богомолова Т.С. Видовая идентификация *Candida* spp.: ДНК-секвенирование и MALDI-TOF масс-спектрометрия. *Успехи медицинской микологии*. 2015; 14: 276-278. [Raush E.R., Vasilyeva N.V., Bogomolova T.S. Species identification of *Candida* spp.: DNA-sequencing and MALDI-TOF-mass-spectrometry. *Suc-*

cesses in Medical Mycology. 2015; 14: 276-278 (In Russ)].

12. Рауш Е.Р., Васильева Н.В., Шагдилеева Е.В. Идентификация *Candida* spp. с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Проблемы медицинской микологии. 2013; 15 (2): 115. [Raush E.R., Vasilyeva N.V., Shagdileeva E.V. Identification of *Candida* spp. with using MALDI-TOF mass-spectrometry. Problems in Medical Mycology. 2013; 15 (2): 115 (In Russ)].

13. Шагдилеева Е.В., Файзуллина Р.Р., Белова О.А., и др. Инвазивный кандидоз, обусловленный *Candida albicans* и *Candida non-albicans*, у новорожденных в Санкт-Петербурге. Проблемы медицинской микологии. 2020; 22 (3): 146. [Shagdileeva E.V., Fayzullina R.R., Belova O.A., et al. Invasive candidiasis caused by *Candida albicans* and *Candida non-albicans* in neonates in Saint-Petersburg. Problems in Medical Mycology. 2020; 22 (3): 146 (In Russ)].

14. Диникина Ю.В., Шадривова О.В., Белогурова М.Б., и др. Инвазивный кандидоз на фоне антифунгальной профилактики у ребенка с саркомой Юинга: описание клинического случая и обзор литературы. Онкогематология. 2019; 14 (4): 59-66. [Dinikina Yu.V., Shadrivova O.V., Belogurova M.B., et al. Breakthrough invasive candidiasis in pediatric patient with Ewing's sarcoma: clinical case report and literature review. Oncohematology. 2019; 14 (4): 59-66 (In Russ)]. doi.org/10.17650/1818-8346-2019-14-4-59-66

15. Рябинин И.А., Чернец Е.Н., Ремнева Н.П. Аннотация MALDI-масс-спектра *Salmonella* sp. серогруппы O:7 (C1). Трансляционная медицина: от теории к практике: сборник научных трудов 8-й Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. 16 апреля 2020 года. Под ред. А.В. Силина. СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2020. С. 180-185. [Ryabinin I.A., Chernets E.N., Remnyeva N.P. Annotation of MALDI-mass-specter of serogroup O:7 (C1) *Salmonella* sp. Translational medicine: from theory to practice: the collection of scientific papers of the 8th All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists. April 16, 2020. Ed. by A.V. Silin. St. Petersburg: Publishing house of NWSMU n.a. I.I. Mechnikov, 2020. pp. 180-185 (In Russ)].

16. Riabinin I.A. Polypeptides from *Aspergillus* spp. forming mass-spectra during MALDI-TOF-mass-spectrometry. Wu Lien-Teh Forum. The 3rd China-Russian International Conference on Microbiology, Immunology and Related Diseases (CRICMID, 2016). September 1-6, 2016. Harbin, Beijing, 2016. pp. 36-38.

17. Рябинин И.А., Васильева Н.В., Богданова Т.В. Белки *Penicillium chrysogenum*, выявляемые при MALDI-TOF-масс-спектрометрии клеточного экстракта. Микология и фитопатология. 2020; 54 (6): 436-445. [Ryabinin I.A., Vasilyeva N.V., Bogdanova T.V. Proteins of *Penicillium chrysogenum* revealing under MALDI-TOF-mass-spectrometry of cellular extract. Mycology and phytopathology. 2020; 54 (6): 436-445 (In Russ)].

18. Лунина С.С., Рябинин И.А. Спектрообразующие полипептиды *Candida glabrata*. «Трансляционная медицина: от теории к практике»: Материалы 6-й научно-практической конференции молодых ученых специалистов. Под ред. д.м.н. А.В. Силина. СПб.: Изво-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2018. С. 27-28. [Lunina S.S., Ryabinin I.A. Spectra-forming polypeptides of *Candida glabrata*. «Translational medicine: from theory to practice»: Proceedings of the 6th scientific and practical conference of young scientists. Ed. by A.V. Silin, dr. med. sci. Saint-Petersburg: Publishing house of NWSMU n.a. I.I. Mechnikov, 2018. pp. 27-28 (In Russ)].

19. Дёмкина А.А., Сальникова В.А., Рябинин И.А. Аннотация масс-спектра низкомолекулярной фракции протеома *Candida albicans* Berkhout. Проблемы медицинской микробиологии. 2017; 19 (2): 53. [Dyemkina A.A., Salnikova V.A., Ryabinin I.A. Annotation of mass-specter of the low-molecular proteome fraction of *Candida albicans* Berkhout. Problems in Medical Mycology. 2017; 19 (2): 53 (In Russ)].

20. Vasilyeva N.V., Atsapkina A.A., Riabinin I.A., et al. Evaluation of modified MALDI-TOF-based approach to identification and typing of *Cryptococcus neoformans* clinical isolates. Mycoses. 2014; 57 (1): 70.

21. Рябинин И.А., Лобачева С.В. Обобщенная характеристика полипептидов *Aspergillus* spp., формирующих масс-спектр протеома при MALDI-TOF-масс-спектрометрии. Проблемы медицинской микологии. 2016; 18 (2): 110-111. [Ryabinin I.A., Lobacheva S.V. Generalized characterization of *Aspergillus* spp. polypeptides forming the proteome mass-spectrum in MALDI-TOF-mass-spectrometry. Problems in Medical Mycology. 2016; 18 (2): 110-111 (In Russ)].

22. Рябинин И.А. Масс-спектрометрия в видовой идентификации возбудителей бактериальных и грибковых инфекций. Электронный образовательный модуль. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. Режим доступа: <http://www.rosmedlib.ru/book/1MECH-0006.html> [Ryabinin I.A. Mass-spectrometry in species identification of causative agents of bacterial and fungal infections. Electronic educational module. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. Mode of access: <http://www.rosmedlib.ru/book/1MECH-0006.html> (In Russ)].

23. Onofre S.B., Bertoldo I.C., Abatti D., Refosco D. Chemical composition of the biomass of *Saccharomyces cerevisiae* – (Meyen ex E.C. Hansen, 1883) yeast obtained from the beer manufacturing process. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB). 2017; 2 (2): 558-562. doi: 10.22161/ijeab/2.2.2

24. Ben Abdeljelil J., Saghrouni F., Khammari I., et al. Investigation of a cluster of *Candida albicans* invasive Candidiasis in a neonatal intensive care unit by pulsed-field gel electrophoresis. Scientific World Journal. 2012; 2012: 138989. <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/138989/>

25. Joshi V.G., Dighe V.D., Thakuria D., et al. Multiple antigenic peptide (MAP): a synthetic peptide dendrimer for diagnostic, antiviral and vaccine strategies for emerging and re-emerging viral diseases. Indian. J. Virol. 2013; 24 (3): 312-

320. doi: 10.1007/s13337-013-0162-z

26. Yu-Ji P., Hui Y., Ming Y., et al. Synthesis of peptide dendrimers with polyhedral oligomeric silsesquioxane cores via click chemistry. Chinese Chemical Letters. 2013; 24 (10): 917-920. doi.org/10.1016/j.ccllet.2013.06.015

Поступила в редакцию журнала 22.03.2022

Рецензент: Т.С. Богомолова

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МУКОРМИКОЗА

Ковыршин С.В. (студент, лаборант-исследователь)*, Выборнова И.В. (н.с.), Босак И.А. (с.н.с.)

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

*Определены биохимические (ассимиляционные) профили микромицетов – возбудителей мукоормикоза. Для изученных мукоормицетов характерна ассимиляция глюкозы, мальтозы, галактозы, рафинозы, целлобиозы, трегалозы, адонита, ксилозы, арабинозы и пролинариламидная активность. Установлено, что для идентификации до рода мукоормицетов *Lichtheimia* spp., *Rhizopus* spp. и *Rhizomucor* spp. на основании способности к ассимиляции наиболее оптимальными являются 3-и и 4-е сутки.*

Ключевые слова: ассимиляция, биохимические профили, мукоормикоз, мукоормицеты, *Mucorales*, грибковая инфекция

BIOCHEMICAL FEATURES OF MUCORMYCOSIS ETIOLOGICAL AGENTS

Kovyrshyn S.V. (student, research assistant), Vybornova I.V. (scientific researcher), Bosak I.A. (senior scientific researcher)

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

*The biochemical (assimilation) profiles of micromycetes, the causative agents of mucormycosis, were studied. It was found that the assimilation of glucose, maltose, galactose, raffinose, cellobiose, trehalose, adonitol, xylose, arabinose as well as proline-arylamidase activity, are generally characteristic for mucoromycetes. It was revealed that for identification to the genus level of micromycetes *Lichtheimia* spp., *Rhizopus* spp. and *Rhizomucor* spp. based on the ability to assimilate various carbon sources, the 3rd and 4th days are the most optimal.*

Key words: assimilation, biochemical profiles, mucormycosis, *Mucoraceae*, *Mucorales*, fungal infection

ВВЕДЕНИЕ

Мукоормикоз – инфекция, вызываемая условно-патогенными мицелиальными грибами порядка *Mucorales*. Как правило, данное заболевание развивает-

ся у пациентов на фоне иммунодефицита и характеризуется высокой летальностью (20%-80%) [1, 2]. В последнее время в мире существенно возросло количество случаев мукоормикоза, особенно среди пациентов с COVID-19, в том числе с развитием вспышек, как было показано в Индии [3]. Несмотря на интенсификацию разработок в сфере лабораторной молекулярно-генетической диагностики мукоормикоза, микроскопическое и культуральное исследование биоматериала по-прежнему остаётся основным в верификации этого диагноза [2, 4].

Видовая идентификация мукоормицетов по морфологическим и некоторым физиологическим признакам (предельная t^0 роста) – доступный подход, но требует наличия у врача-микробиолога специальной подготовки и определенного опыта работы с этими грибами. В последнее время, помимо микроскопического исследования культуры, рекомендован для идентификации грибов метод MALDI-TOF-масс-спектрометрии (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF-MS)), но, как показал опыт, данная методика требует специальных подходов к пробоподготовке, разработке новых библиотек масс-спектро-профилей мукоормицетов и имеет ограничение в точности идентификации отдельных мукоормицетов, например, представителей рода *Lichtheimia* [5].

Экспертным подходом к видовой идентификации мукоормицетов является таргетное ДНК-секвенирование таксономически значимых локусов. Однако оборудование и средства для ее проведения пока доступны для небольшого количества диагностических лабораторий.

Идентификация возбудителей мукоормикоза до рода и вида имеет важное клиническое и эпидемиологическое значение. Имеются данные о различиях в чувствительности в зависимости от вида возбудителей мукоормикоза к противогрибковым лекарственным препаратам, в частности, к амфотерицину В [6].

В связи с этим для решения диагностических задач при мукоормикозе актуально изыскание дополнительных методов идентификации мукоормицетов, в частности, основанных на определении биохимических свойств.

Цель работы: определить биохимические (ассимиляционные) профили возбудителей мукоормикоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения биохимических профилей мукоормицетов использовали тест-систему Auhacolor™ 2 (Bio-Rad). Исследовали 28 штаммов порядка *Mucorales*, предоставленных Российской коллекцией патогенных грибов (РКПГ): *Lichtheimia* spp. – 11 штаммов (5 – *L. corymbifera* – РКПГ F-2020, 1601, 1493, 1837, 1568; 5 – *L. ramosa* – РКПГ F-1456, 1969, 2019, 2007, 2021; 1 – *L. ornata* – РКПГ F-1507), *Rhi-*

* Контактное лицо: Ковыршин Сергей Валерьевич, e-mail: kovyrshin_serгей@mail.ru

zopus spp. – 10 штаммов (8 - *R. arrhizus* – РКПГ F-2074, 2053, 2054, 1816, 1537, 1971, 2027, 2140; 2 – *R. microsporus* – РКПГ F-1538, 1497), 7 штаммов *Rhizomucor pusillus* – РКПГ F-1536, 1508, 1341, 1892, 1542, 1648, 1854. Культуры микоромицетов выращивали 5 дней на агаре Сабуро. Для приготовления инокулюма с поверхности культуры собирали споры стерильным тампоном и добавляли их в 0,85% стерильный раствор, доводя плотность до 1 по МакФарланду. Затем 200 мкл инокулюма растворяли в 3 мл дистиллированной воды. Полученную рабочую взвесь заносили по 100 мкл в каждую лунку панели для биохимической идентификации и инкубировали в течение 4 суток при $t^{\circ} = 28^{\circ}C$ с ежедневной визуальной фиксацией результатов. Результат считали положительным при смене окраски в лунке с синей на желтую. Для обработки результатов применяли критерий Манна-Уитни, а также программу STATISTICA for Windows. Для исследования особенностей роста мукоромицетов в лунках биохимической панели использовали стереомикроскоп Stemi 2000-C с осветителем KL 1500 LCD (Carl Zeiss Jena, Германия).

Использованные сокращения. GLU – глюкоза, MAL – мальтоза, SAC – сахароза, GAL – галактоза, LAC – лактоза, RAF – рафиноза, INO – инозит, CEL – целлобиоза, TRE – трегалоза, ADO – адонит, MEL – мелцитоза, XYL – ксилоза, ARA – арабиноза, HEX – гексозаминидазная активность, POX – фенолоксидазная активность, PRO – пролинариламидазная активность.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования получены биохимические профили возбудителей мукоромикоза – представителей родов *Lichtheimia*, *Rhizopus* и *Rhizomucor*. Характерные свойства штамма, присущие мукоромицету *Lichtheimia corymbifera*, по ассимиляции углеводов отражены на биохимической панели (Рис. 1).

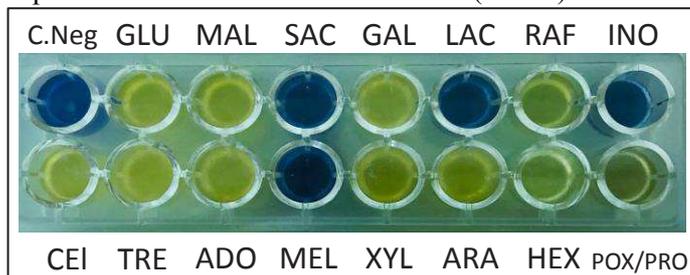


Рис. 1. Биохимический профиль *Lichtheimia corymbifera* РКПГF-2020 через 2 суток.

На рисунке 2 отчетливо видны различия в морфологии мукоромицета при исследовании содержимого лунок с отрицательным и положительным результатами по ассимиляции углеводов.



Рис.2. Стереомикроскопия положительных и отрицательных лунок.

При проведении повторных тестов отмечено, что на 1-е сутки биохимический профиль одних и тех же штаммов внутри родов *Lichtheimia* и *Rhizomucor* был вариабелен, но на 2-4-е сутки стабильно воспроизводился. Для штаммов рода *Rhizopus* не выявлена вариабельность при повторной постановке теста. В связи с этим оценку биохимических профилей для штаммов проводили, начиная с 2-х суток.

Биохимические профили изученных родов мукоромицетов представлены в таблице 1. На сроке 2 суток выявлены различия между штаммами одного и того же вида по способности ассимилировать углеводы, поэтому в таблице указаны доли (%) положительных и отрицательных штаммов.

Таблица 1

Биохимические профили микоромицетов порядка *Mucorales* в течение 3 суток исследования

<i>L. ramosa</i>																
	GLU	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	INO	CEL	TRE	ADO	MEL	XYL	ARA	HEX	POX	PRO
2 сутки	+	+	-	+	60%+, 40%-	80%+, 20%-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
3 сутки	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
4 сутки	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
<i>L. corymbifera</i>																
	GLU	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	INO	CEL	TRE	ADO	MEL	XYL	ARA	HEX	POX	PRO
2 сутки	+	+	-	+	20%+, 80%-	+	-	+	+	80%+, 20%-	-	+	+	-	-	+
3 сутки	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
4 сутки	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
<i>L. ornata</i>																
	GLU	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	INO	CEL	TRE	ADO	MEL	XYL	ARA	HEX	POX	PRO
2 сутки	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
3 сутки	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
4 сутки	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
<i>R. pusillus</i>																
	GLU	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	INO	CEL	TRE	ADO	MEL	XYL	ARA	HEX	POX	PRO
2 сутки	86%+, 14%-	86%+, 14%-	-	86%+, 14%-	29%+, 71%-	-	-	+	+	-	-	+	86%+, 14%-	-	-	+
3 сутки	86%+, 14%-	86%+, 14%-	-	86%+, 14%-	29%+, 71%-	58%+, 42%-	-	+	+	-	-	+	86%+, 14%-	-	-	+
4 сутки	86%+, 14%-	86%+, 14%-	-	86%+, 14%-	29%+, 71%-	58%+, 42%-	-	+	+	-	-	+	86%+, 14%-	-	-	+
<i>R. microsporus</i>																
	GLU	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	INO	CEL	TRE	ADO	MEL	XYL	ARA	HEX	POX	PRO
2 сутки	+	50%+, 50%-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+

3 сутки	+	50% +, 50%-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
4 сутки	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
R. arrhizus																
	GLU	MAL	SAC	GAL	LAC	RAF	INO	CEL	TRE	ADO	MEL	XYL	ARA	HEX	POX	PRO
2 сутки	+	63% +, 37% -	-	87%+, 13% -	-	-	-	87%+, 13% -	87%+, 13% -	+	-	50% +, 50% -	50% +, 50% -	-	-	13% +, 87% -
3 сутки	+	+	-	+	-	13% +, 87% -	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
4 сутки	+	+	-	+	-	13% +, 87% -	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+

Примечание: в % указано количество штаммов, ассимилировавших вещества.

Биохимические характеристики изученных видов мукоромицетов. На 2-е сутки для 100% штаммов *L. ramosa* была характерна ассимиляция глюкозы, мальтозы, галактозы, целлобиозы, трегалозы, адонита, ксилозы, арабинозы и положительная пролинариламидазная активность (ПАА), для 60% штаммов – лактозы, для 80% – рафинозы. Для штаммов *L. ramosa* не была свойственна ассимиляция сахарозы, инозита, мелецитозы, а также гексозаминидазная и фенолоксидазная активности. Установлено, что к 3-м суткам 100% штаммов *L. ramosa* ассимилировали лактозу и рафинозу, а на 4-е сутки изменений в биохимическом профиле не обнаружено.

Показано, что на 2-е сутки 100% штаммов *L. corymbifera* ассимилировали глюкозу, мальтозу, галактозу, рафинозу, целлобиозу, трегалозу, ксилозу, арабинозу и проявляли ПАА; 20% штаммов ассимилировали лактозу, 80% – адонит. Для 100% штаммов не была характерна ассимиляция сахарозы, инозита, мелецитозы, гексозаминидазная и фенолоксидазная активности. Установлено, что на 3-и сутки 100% штаммов ассимилировали лактозу и адонит, а на 4-е сутки изменений в биохимическом профиле не обнаружено.

В результате исследования определено, что на 2-е сутки штамм *L. ornata* ассимилировал глюкозу, мальтозу, галактозу, рафинозу, целлобиозу, трегалозу, адонит, ксилозу, арабинозу, ПАА, но отсутствовала способность к ассимиляции сахарозы, инозита, мелецитозы, гексозаминидазная и фенолоксидазная активности. Кроме того, на 3-е и 4-е сутки изменений в биохимическом профиле не было обнаружено.

Следует отметить, что на 2-е сутки 100% штаммов *R. pusillus* усваивали целлобиозу, трегалозу, ксилозу и проявляли ПАА; 86% – глюкозу, мальтозу, галактозу, арабинозу, 29% – лактозу. Для 100% штаммов не свойственна ассимиляция сахарозы, рафинозы, инозита, адонита, мелецитозы, гексозаминидазная и фенолоксидазная активности. На 3-е сутки для 58% штаммов характерна ассимиляция рафинозы. Следует отметить, что на 4-е сутки изменений в биохимическом профиле не обнаружено.

На 2-е сутки для 100% штаммов *R. microsporus* отмечали ассимиляцию глюкозы, галактозы, целлобиозы, трегалозы, адонита, ксилозы и ПАА, для 50% – мальтозы. В то же время отмечена ассимиляция сахарозы, лактозы, рафинозы, инозита, мелецитозы, арабинозы, гексозаминидазная и фенолоксидазная активности. На 3-е сутки 100% штаммов *R. microsporus* ассимилировали арабинозу, но на 4-е сутки изменений в биохимическом профиле не обнаружено.

Для 100% штаммов *R. arrhizus* на 2-е сутки отмечали ассимиляцию глюкозы, адонита, для 87% – галактозы, целлобиозы, трегалозы, для 63% – мальтозы, для 50% – ксилозы, арабинозы, для 13% – положительную ПАА. 100% штаммов *R. arrhizus* не ассимилировали лактозу, сахарозу, рафинозу, инозит, мелецитозу, отсутствовали гексозаминидазная и фенолоксидазная активности. На 3-е сутки 100% штаммов этого мукоромицета усваивали мальтозу, галактозу, целлобиозу, трегалозу, ксилозу, арабинозу, были положительны на ПАА; 13% штаммов ассимилировали рафинозу. На 4-е сутки изменений в биохимическом профиле не обнаружено.

В отличие от *R. microsporus*, некоторые штаммы *R. arrhizus* ассимилировали рафинозу на 3-е сутки.

Сравнение различных родов мукоромицетов на основе их биохимических профилей. Установлено, что на 2-е сутки различия выявлены между: *Lichtheimia* и *Rhizomucor* – в ассимиляции адонита, рафинозы; *Lichtheimia* и *Rhizopus* – в ассимиляции арабинозы, ПАА и рафинозы; *Rhizopus* и *Rhizomucor* – в ассимиляции адонита и ПАА. На 3-е сутки различия проявлялись между: *Lichtheimia* и *Rhizomucor* – в ассимиляции рафинозы, лактозы и адонита; *Lichtheimia* и *Rhizopus* – в ассимиляции рафинозы и лактозы; *Rhizopus* и *Rhizomucor* – в ассимиляции адонита. На 4-е сутки показаны различия между: родами *Lichtheimia*, *Rhizomucor* и *Rhizopus* – в отсутствии ассимиляции последним лактозы и рафинозы; *Lichtheimia*, *Rhizopus* и *Rhizomucor* – в отсутствии ассимиляции последним адонита. Выявленные различия статистически достоверны ($p < 0,05$).

Полученным биохимическим профилям были присвоены коды по аналогии с имеющимися для дрожжевых грибов в инструкции Аухасолог™ 2. Каждому тесту соответствовало определенное значение, затем суммировали положительные показатели в группе из 3 лунок (5 групп). Получившееся число являлось одной из составляющих кода (табл. 2). В данной модификации рассчитывали только показатели, основанные на ассимиляции веществ, так как остальные параметры тест-системы, предложенные производителем, применимы только для дрожжевых грибов.

Таблица 2

Условные коды, характеризующие микромицеты порядка *Mucorales* на тест-системе Auhacolor™ 2

<i>L. ramosa</i>						
2 сутки	3	5 (7)	6	5	1	+
3 сутки	3	7	6	5	1	+
4 сутки	3	7	6	5	1	+
<i>L. corymbifera</i>						
2 сутки	3	5	6	5	1	+
3 сутки	3	7	6	5	1	+
4 сутки	3	7	6	5	1	+
<i>L. ornata</i>						
2 сутки	3	7	6	5	1	+
3 сутки	3	7	6	5	1	+
4 сутки	3	7	6	5	1	+
<i>R. microsporus</i>						
2 сутки	1 (3)	1	6	1	0	+
3 сутки	1 (3)	1	6	5	1	+
4 сутки	3	1	6	5	1	+
<i>R. arrhizus</i>						
2 сутки	1	1	6	1 (5)	0 (1)	+
3 сутки	3	1	6	5	1	+
4 сутки	3	1	6	5	1	+
<i>R. pusillus</i>						
2 сутки	1	1	4 (6)	4	1	-
3 сутки	3	1 (5)	6	4	1	+
4 сутки	3	1 (5)	6	4	1	+

Как видно из представленного ключа, на вторые сутки наблюдения максимальное числовое значение кода было у представителей рода *Lichtheimia*. Внутри рода *Rhizopus* можно различить *R. microsporus* и *R. arrhizus* между собой. Рода *Rhizopus* и *Rhizomucor* отличались по отсутствию ассимиляции адонита вторым. На третьи и четвертые сутки все изученные рода мукоромицетов отличались уникальными кодами биохимических признаков.

Сложной оказалась дифференцировка видов внутри рода *Lichtheimia*, так как биохимические профили *L. ramosa*, *L. ornata* и *L. corymbifera* наиболее схожи. Вероятно, увеличение выборки штаммов мукоромицетов позволит установить дополнительные различия между ними.

Изучение биохимической активности мукоромицетов на основе других тест-систем по данным литературы. Исторический опыт исследования ассимиляционной активности мукоромицетов сравнительно скуден. Одно из первых наблюдений с использованием 2-х биохимических панелей промышленного производства опубликовано сотрудниками отдела молекулярной микологии института Пастера в Париже. Авторам удалось доказать возможность биохимической идентификации мукоромицетов, однако, в противоположность нашему исследованию, индивидуальные биохимические особенности штаммов были слабо выражены [7]. Кроме того, авторы не смогли определить консенсусный ассимиляционный профиль *Rhizopus arrhizus*. В октябре 2018 г. Pawlowska J. и соавторы [8] сообщили о результатах

исследования, проведенного с использованием тест-системы «Biolog Phenotyping microarray», где оценили профили ассимиляции углеводов у мукоромицетов. В список представленных родов вошли *Rhizopus* и *Lichtheimia*, для которых были выявлены различия: ассимиляция лактозы и рафинозы вторым родом, но не первым, что совпадает с полученными нами результатами (Рис. 3).

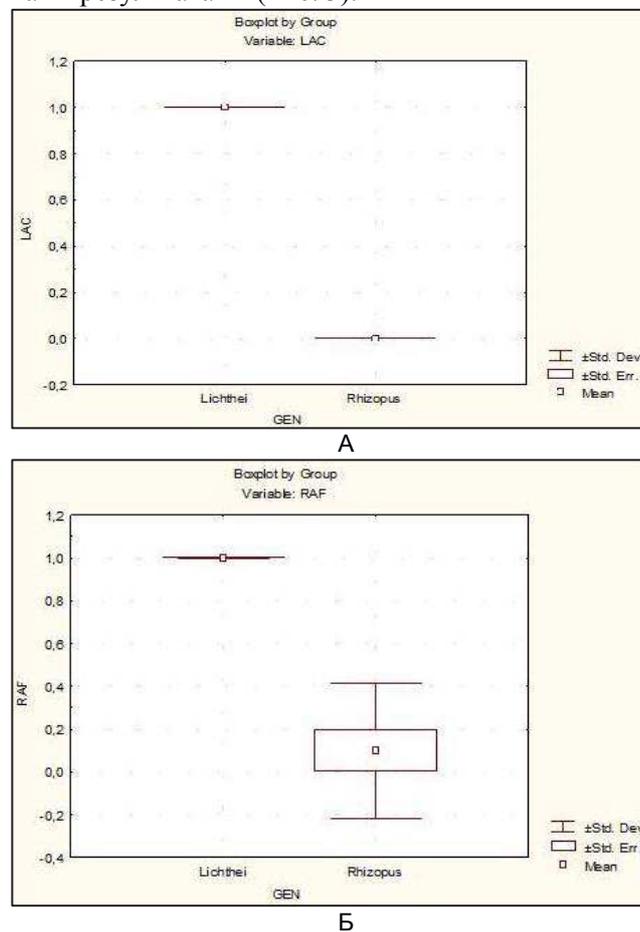


Рис. 3. Различия в ассимиляции лактозы (А) и рафинозы (Б) микромицетами родов *Rhizopus* и *Lichtheimia* на 3 сутки.

Авторы отметили, что штаммы рода *Rhizopus* не ассимилировали целлюлозу, но хорошо росли на простых целлюлозо-содержащих средах. В нашем исследовании присутствовал углевод целлобиоза, который является мономером целлюлозы. Установлено, что род *Rhizopus* может ассимилировать целлобиозу, что объясняет данный феномен.

В работе Pawlowska J. et al.[8], также как и в проведенном нами исследовании, показано, что *Lichtheimia* spp. ассимилируют более широкий спектр углеводов, чем *Rhizopus* spp. Авторы провели аннотирование генов-транспортеров углеводов у мукоромицетов и установили, что представители семейства *Lichtheimiaceae* имеют большее количество таких генов, что может объяснять более эффективное использование сахаров в качестве единственного источника углерода этими микромицетами.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что исследование биохимических

свойств мукомрицетов по ассимиляции набора углеводов может быть полезно при идентификации грибов до рода.

ВЫВОДЫ

1) Биохимические отличия по ассимиляции углеводов представителей различных родов мукомрицетов наиболее выражены на третьи и четвертые сутки наблюдения: в отличие от родов *Lichtheimia* и *Rhizomucor*, для рода *Rhizopus* не характерна асси-

миляция лактозы и рафинозы, а для рода *Rhizomucor* – адонита.

2) Для исследованных в работе мукомрицетов родов *Lichtheimia*, *Rhizopus* и *Rhizomucor* характерны ассимиляция глюкозы, мальтозы, галактозы, целлобиозы, трегалозы, ксилозы, арабинозы и пролина-риламидазная активность. Наибольшее количество веществ ассимилируют представители рода *Lichtheimia*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хостелиди С.Н., Шадрикова О.В., Борзова Ю.В. и др. Клинико-лабораторные особенности мукомрикоза у взрослых. Проблемы медицинской микологии. 2020; 22 (2): 22-28. [Khostelidi S.N., Shadrivova O.V., Borzova U.V., et al. Clinical and laboratory features of mucormycosis in adults. Problems in medical mycology. 2020; 22 (2): 22-28 (In Russ)]. doi:10.24412/1999-6780-2020-2-22-28
2. Cornely O.A., Alastruey-Izquierdo A., Arenz D., Chen S.C.A., 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. The Lancet Infectious Diseases. 2019; 19 (12): e405-e421.
3. Gandra S., Ram S., Levitz S.M. The «Black Fungus» in India: The Emerging Syndemic of COVID-19-Associated Mucormycosis. Ann. Intern. Med. 2021; 174 (9): 1301-1302. doi: 10.7326/M21-2354
4. Министерство здравоохранения Российской Федерации. «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» - Временные методические рекомендации, версия 15 (22.02.2022). [Ministry of Health of the Russian Federation. "Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19)" - Temporary guidelines, version 15 (02/22/2022) (In Russ)].
5. Рябинин И.А., Ковыршин С.В., Васильева Н.В. Масс-спектрометрическая характеристика возбудителей мукомрикоза. Проблемы медицинской микологии. 2021; 23 (4), 44-50. [Ryabinin I.A., Kovyryshyn S.V., Vasilyeva N.V. Mass-spectrometric characteristics of mucormycosis causative agents. Problems in Medical Mycology. 2021; 23 (4), 44-50 (in Russ)]. doi: 10.24412/1999-6780-2021-4-44-50
6. Vasilyeva N., Vybornova I., Kovyryshin S., et al. In vitro susceptibilities of mucormycosis etiologic agents to amphotericin B and posaconazole. J. Fungi. 2021; 7 (11): 289-290. doi: 10.3390/jof7110916.
7. Schwarz P., Lortholary O., Dromer F., Dannaoui E. Carbon assimilation profiles as a tool for identification of zygomycetes. Journal of Clinical Microbiology. 2007; 45 (5): 1433–1439. doi: 10.1128/JCM.02219-06
8. Pawłowska J., Okraśińska A., Kisło K., et al. Carbon assimilation profiles of mucoralean fungi show their metabolic versatility. Sci. Rep. 2019; 9 (1): 11864. doi: 10.1038/s41598-019-48296-w.

Поступила в редакцию журнала 10.03.2022

Рецензент: Т.С. Богомолова