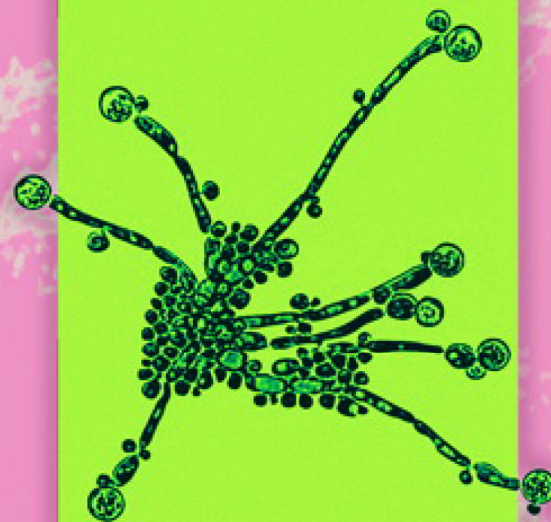


ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 23 №4



Problems in medical mycology

Vol.23 №4

2021

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

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

Deputies Chief Editor —

N.N. Klimko — M.D., prof. (Russia)

A.E. Taraskina — Ph.D. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

Manager of Editorial Office —

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

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

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

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 23, № 4, 2021

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

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

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 23, № 4, 2021

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

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

Заместители главного редактора:

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

А.Е. Тараскина — к.б.н. (Россия)

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

Зав. редакцией —

Е.С. Гукова (elena.gukova@szgmu.ru)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| <i>Еноктаева О.В., Николенко М.В., Трушников Д.Ю., Барышникова Н.В., Соловьева С.В.</i> Механизм формирования биопленок грибов рода <i>Candida</i> при кандидозной инфекции (обзор литературы)..... | 3 |
| <i>Аликбаев Т.З., Фролова Е.В., Гулордава М.Д., Максимова М.Д., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Васильева Н.В., Разнатовский К.И.</i> Современные представления о патогенезе, клинике и течении тяжелого псориаза | 9 |

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Шагдильева Е.В., Шадривова О.В., Десятник Е.А., Кулакова С.М., Пальчикова Л.С., Стекольников А.А., Азанчевская С.В., Митрофанов В.С., Борзова Ю.В., Шурпицкая О.А., Игнатъева С.М., Климко Н.Н.</i> Аспергиллезный трахеобронхит у больных Covid-19: описание клинического случая и обзор литературы..... | 17 |
| <i>Бурьгина Е.В., Козлова Я.И., Мельникова А.В., Аак О.В., Разнатовский К.И., Климко Н.Н.</i> Клинико-лабораторные маркеры тяжелого течения хронической спонтанной крапивницы..... | 23 |
| <i>Корнишева В.Г., Шатохина А.В., Вашкевич А.А.</i> Лазерное удаление ногтевого валика – один из методов лечения вросшего ногтя..... | 30 |

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Босак И.А., Выборнова И.В., Чилина Г.А., Павлова И.Э., Богомолова Т.С., Тараскина А.Е., Чжан Ф., Васильева Н.В.</i> Изучение вирулентности клинических изолятов мукоромицетов на экспериментальной модели инвазивного мукормикоза у мышей..... | 34 |
| <i>Выборнова И.В., Ковыршин С.В., Босак И.А., Павлова И.Э., Богомолова Т.С., Хостелиди С.Н., Чилина Г.А., Пинегина О.Н., Васильева Н.В.</i> Профили чувствительности клинических изолятов мукоромицетов к противогрибковым лекарственным средствам <i>in vitro</i> | 39 |
| <i>Рябинин И.А., Ковыршин С.В., Васильева Н.В.</i> Масс-спектрометрическая характеристика возбудителей мукормикоза..... | 44 |

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Медведева Т.В., Леина Л.М.</i> XXX Конгресс европейской академии дерматовенерологии (EADV) | 51 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| <i>Enoktaeva O.V., Nikolenko M.V., Trushnikov D.Yu., Baryshnikova N.V., Solovieva S.V.</i> Fungal biofilms formation mechanism of the genus <i>Candida</i> fungi in <i>Candida</i> infection (literature review)..... | 3 |
| <i>Alikbaev T.Z., Frolova E.V., Gulordava M.D., Maksimova M.D., Uchevatkina A.E., Filippova L.V., Vasilieva N.V., Raznatovskiy K.I.</i> Modern ideas about the pathogenesis, clinic and treatment of severe psoriasis..... | 9 |

CLINICAL MYCOLOGY

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Shagdileeva E.V., Shadrivova O.V., Desyatnik E.A., Kulakova S.M., Palchikova L.S., Stekolnikov A.A., Azanchevskaya S.V., Mitrofanov V.S., Borzova Yu.V., Shurpitskaya O.A., Ignatyeva S.M., Klimko N.N.</i> Aspergillosis tracheobronchitis in patients with Covid-19: clinical case description and literature review..... | 17 |
| <i>Burygina E.V., Kozlova Y.I., Melnikova A.V., Aak O.V., Raznatovskiy K.I., Klimko N.N.</i> Clinical and laboratory markers of severe chronic spontaneous urticarial..... | 23 |
| <i>Kornisheva V.G., Shatokhina A.V., Vashkevich A.A.</i> Laser removal of a nail fold is one of the methods of treating an ingrown toenail..... | 30 |

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Bosak I.A., Vybornova I.V., Chilina G.A., Pavlova I.E., Bogomolova T.S., Taraskina A.E., Zhang F., Vasilyeva N.V.</i> Investigation of clinical mucoralean isolates virulence on the experimental murine model of invasive mucormycosis..... | 34 |
| <i>Vybornova I.V., Kovyrshin S.V., Bosak I.A., Pavlova I.E., Bogomolova T.S., Khostelidi S.N., Chilina G.A., Pinegina O.N., Vasilyeva N.V.</i> In vitro antifungal susceptibility profiles of clinical mucoralean isolates | 39 |
| <i>Ryabinin I.A., Kovyrshin S.V., Vasilyeva N.V.</i> Mass spectrometric characteristic of mucormycosis causative agents..... | 44 |

CHRONICLE AND INFORMATION

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <i>Medvedeva T.V., Leina L.M.</i> XXX Congress of European Academy of Dermatology and Venereology (EADV)..... | 51 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНОК ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* ПРИ КАНДИДОЗНОЙ ИН- ФЕКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

**Еноктаева О.В. (ассистент кафедры)*, Нико-
ленко М.В. (профессор кафедры), Трушников
Д.Ю. (доцент), Барышникова Н.В. (старший
преподаватель кафедры), Соловьева С.В.
(и.о. проректора по региональному развитию
и непрерывному медицинскому образова-
нию)**

Тюменский государственный медицинский университет,
Тюмень Россия

*Основным механизмом развития кандидозной ин-
фекции является способность грибов рода *Candida* обра-
зовывать биопленки. Патогенные свойства грибов зави-
сят от работы генов, сплайсинг которых обусловлен
условиями окружающей среды и стадиями развития са-
мой биопленки. Фенотипическая изменчивость этих мик-
роорганизмов, а также угнетение собственной микрофло-
ры организма хозяина, иммуномодуляторные действия,
снижающие эффективность антимикробной резистент-
ности организма хозяина, и другие факторы патогенно-
сти грибов рода *Candida* приводят к развитию висце-
рального кандидоза.*

Ключевые слова: *Candida*, биопленки, гены, феноти-
пическая изменчивость, иммунитет

FUNGAL BIOFILMS FORMATION MECHANISM OF THE GENUS *CAN- DIDA* FUNGI IN *CANDIDA* INFEC- TION (LITERATURE REVIEW)

**Enoktaeva O.V. (assistant of the department),
Nikolenko M.V. (professor of the department),
Trushnikov D.Yu. (associate professor), Ba-
ryshnikova N.V. (senior lecturer of the depart-
ment), Solovieva S.V. (acting vice-rector for re-
gional development and continuing medical
education)**

Tyumen State Medical University, Tyumen Russia

*The main mechanism of the candidal infections develop-
ment is the ability of the genus *Candida* fungi to form biofilms.
The pathogenic properties of fungi depend on the work of
genes, the splicing of which is determined by environmental
conditions and the stages of development of the biofilm itself.*

* Контактное лицо: Еноктаева Ольга Викторовна,
e-mail: pechkanova@mail.ru

*The phenotypic variability of these micromycetes, as well as
suppression of the host's own microbiota, immunomodulatory
actions that reduce the effectiveness of the antimicrobial re-
sistance of the host organism, and other pathogenic factors of
Candida spp. lead to the development of visceral candidiasis.*

Key words: *Candida*, biofilms, genes, phenotypic varia-
bility, immunity

Условно-патогенные представители рода *Candida Berkhout* адсорбируются на различных по-
верхностях, образуя биопленки в организме хозяина,
что значительно повышает их адаптивные свойства и
приводит к развитию кандидозной инфекции [1-3].

На протяжении всей своей эволюции патоген-
ные микроорганизмы и их хозяева находятся в по-
стоянном сопротивлении: грибы рода *Candida* разра-
батывают пути прикрепления к эпителиальным и
эндотелиальным клеткам, слизистым оболочкам и
медицинским инвазивным изделиям, а их хозяева –
способы защиты от образования биопленок.

Когда иммунная защита человека функциониру-
ет нормально, грибы обычно не представляют опас-
ности для его здоровья. В борьбе с микотической
инфекцией в организме человека задействован ши-
рокий спектр иммунных реакций. Адаптивный (при-
обретенный) иммунитет включает в себя два компо-
нента: клеточный (В- и Т-лимфоциты) и гумораль-
ный (выработка цитокинов и антител – иммуногло-
булинов). Клетки, способные к фагоцитозу (нейтро-
филы, макрофаги, дендритные клетки), и раство-
римые медиаторы иммунной системы (комплементар-
ный каскад и антимикробные пептиды) относятся к
компонентам врожденного иммунитета.

Нарушение работы иммунной системы ведет к
развитию микозов внутри организма хозяина. К
предрасполагающим факторам кандидозной инфе-
кции относят иммуносупрессию, нейтропению, кате-
теризацию и хирургическое вмешательство в желу-
дочно-кишечный тракт, преждевременные роды (не-
зрелая иммунная система недоношенных детей),
применение антибиотиков широкого спектра дей-
ствия и кортикостероидов, повреждение кожных по-
кровов. Несоблюдение гигиены полости рта также
способствует образованию биопленок при использо-
вании зубных протезов. Грибы рода *Candida* могут
вызывать кандидозы кожных покровов, слизистых
оболочек желудочно-кишечного тракта и влагалища,
в наиболее тяжелых случаях они проникают через
эпителий и распространяются по всему организму
кровью, заражая самые разные органы, включая поч-
ки, печень и мозг [2, 3].

Цель исследования: проанализировать литера-
турные данные по изучению механизмов формиро-
вания биопленок грибами рода *Candida* при канди-
дозной инфекции.

Развитию кандидозной инфекции предшествует проникновение грибов в организм хозяина, образование биопленок и расселение *Candida* spp. по различным биотопам. Процесс формирования биопленки этими микромицетами является многостадийным и зависит от свойств микроорганизмов, специфики колонизированных материалов или клеток организма-хозяина. Существует четыре основных этапа формирования конгломерата клеток: обратимая адгезия, необратимая адгезия, созревание биопленки и дисперсия бластоспор. Рассмотрим временную характеристику жизнедеятельности биопленки внутри организма хозяина.

На стадии обратимой адгезии расстояние между клетками грибов и поверхностью субстрата относительно велико. Заселение поверхности грибами происходит благодаря относительно слабым физическим взаимодействиям, которые характерны для всех микроорганизмов [1].

Стадия необратимой адгезии зависит от действия специфических факторов: в силу вступают лиганд-рецепторные взаимодействия, когда адгезины (лиганды) – поверхностные компоненты клетки *Candida* – распознают отдельные рецепторы (лиганды) клеток-мишеней и прикрепляются к ним [4]. Клетки грибов приступают к активному размножению на поверхности тканей человека, образуя однослойный конгломерат клеток, синтезирующих матрикс.

Под действием окружающей среды происходит метаболический сдвиг в клетках диморфных грибов, приводящий к морфологическим изменениям. Образование нитевидных форм и синтез внеклеточных гидролитических ферментов на их концах необходимы для пенетрации (процесса проникновения) в клетки и ткани хозяина и последующего их разрушения. К спектру ферментов, продуцируемых клетками в окружающую среду, относятся эластазы, протеиназы, фосфолипазы, липазы, фосфомоноэстеразы, гексозаминидазы. Первоначальное прикрепление дрожжевых клеток *C. albicans* сопровождается формированием ростковых трубок в течение первых 3-6 часов существования биопленки [5].

Зрелая биопленка *C. albicans* взаимодействует с эпителиальными клетками человека или как комменсал, или как инвазивный патоген. После адгезии дрожжевые клетки располагаются на поверхности клеток хозяина или между ними, а гифы начинают разрушать эпителиальную ткань двумя комплементарными механизмами: они могут проникать в отдельные клетки или разрушать межклеточное пространство между ними [6].

Основным фактором начала биопленочной дисперсии считают достижение критической толщины конгломерата, когда бластоспоры мигрируют из периферии зрелой биопленки в окружающую среду, и

начинается процесс колонизации других ниш в организме хозяина. Дрожжеподобные клетки, высвобождающиеся из биопленки на стадии дисперсии, отличаются от свободноживущих клеток планктонной фазы повышенной патогенностью. Отрыв клеток от биопленки и ее дисперсия – это преднамеренное разделение в результате реакции на неблагоприятные условия окружающей среды [4-8].

Открытие белка-регулятора антиадгезии *uwp1* в дрожжевых клетках является научным доказательством наличия фазы диффузии в жизненном цикле биопленки. Выделение бластоспор требует ослабления адгезионных свойств, что соответствует белку *uwp1*, а основным регулятором процесса является белок *hsp90* [1, 7].

У *C. albicans* механизм реализации патогенного процесса включает в себя следующие этапы: адгезию, инвазию, индукцию повреждения эпителиальных тканей, проникновение в соединительную ткань, преодоление тканевых клеточных механизмов защиты, пенетрацию в сосудистое русло с последующей лимфогематогенной диссеминацией и поражением других экологических ниш внутри организма хозяина, приводящее к висцеральному кандидозу [3, 9].

Благодаря белкам внешней стороны клеточной стенки грибов происходит первичное взаимодействие патогена и клетки хозяина. К этим белкам относятся аспартил-протеазы, фосфолипазы и адгезины [10]. При анализе научной литературы установлено, что одни и те же классы веществ могут иметь разное название. Например, семейство белков Als называют адгезинами или лигандами. Дадим определение этим двум терминам.

Адгезины – это гликопротеины клеточной стенки, функцией которых является прикрепление клеток патогенных микроорганизмов к биотическому или абиотическому субстрату. Для многих из них описан GPI-якорь (ГФИ-якорь), закрепляющий их в цитоплазматической мембране [4].

Лиганды – это компоненты клеточной стенки, функцией которых является распознавание молекул на других клетках. Чаще упоминают о лиганд-рецепторных взаимодействиях, когда белки клеточной стенки грибов распознают рецепторы клетки-хозяина.

Исходя из этих двух определений, можно отметить, что они оба подходят для семейства белков Als, так как они сначала распознают интегрин клеточной мембраны или внеклеточного матрикса клетки хозяина, такие как фибронектин, коллаген и ламинин, а потом прикрепляются к ним. С такой опорой клетки грибов не могут быть устранены с поверхности кровью или выделениями хозяина, такими как слюна или пот [3, 11].

Белки адгезии также называют лектинами. Лектины – это белки или гликопротеины, связывающие

остатки углеводов на поверхности клетки между собой, вследствие чего происходит агглютинация клеток. В качестве примера можно привести адгезины семейства Era, которые связывают гликаны клеток хозяев, чтобы обеспечить первую стадию инфицирования *C. glabrata* [11].

Адгезины клеточной стенки грибов обеспечивают колонизацию поверхностей медицинских устройств, кожных покровов, слизистых оболочек, эпителиальных и эндотелиальных клеток человека. Проникая в ткани человека, грибы рода *Candida* разрушают их, поэтому адгезины являются фактором вирулентности [10].

Разберем это явление на примере семейства генов SAP. Во-первых, для расщепления субстрата у белков Sap есть свой оптимум значения pH окружающей среды. Для ферментов от Sap1 до Sap3 и Sap8 условия наиболее благоприятны при pH от 2,5 до 5,0, тогда как Sap4-Sap6 обладают лучшей активностью при более высоких значениях pH. Во-вторых, у *C. albicans* гены SAP1-SAP3 экспрессируются преимущественно в дрожжевых клетках, а гены SAP4-SAP6 – в основном в гифальных клетках. В-третьих, энзимы Sap обладают специфичностью к поражаемым тканям: грибы способны колонизировать или только оральный, или только вагинальный эпителий [3, 12].

Семейство адгезинов Iff/Hyr, адгезины Als1, Als5, Hwp1 (известный также, как Ece2), Ear1 *C. albicans* и семейство адгезинов EPA *C. glabrata* связаны с классом модифицированных адгезиноподобных маннопротеинов – гликозилфосфатидилинозитолами (ГФИ-якорь), которые играют важную роль в формировании биопленки и во взаимодействиях грибов с тканями хозяина и другими биологическими клетками. Энзимы аспартил-протеазы Sap9 и Sap10, глюкозилтрансферазы Phr1 и Phr2, трансгликозидазы Crh11 также относятся к белкам клеточной стенки GPI [13].

Семейство белков-адгезинов с агглютининподобной последовательностью (Als), информация о которой зашифрована в девяти генах ALS1 – ALS7, ALS9-1 и ALS9-2, является основным фактором в формировании биопленки *C. albicans*. Благодаря данному семейству белков патоген может распознавать человеческий фибронектин, ламинин, коллаген, фибриноген, соединительный белок межэпителиальных клеток E-кадгерин, мембранный белок N-кадгерин, эпителиальные и эндотелиальные клетки хозяина, прикрепляться к абиотическим поверхностям внутри организма хозяина, взаимодействовать с другими клетками внутри биопленки. Адгезивный белок Als3, вырабатываемый гифами, является многофункциональным фактором вирулентности. Он действует как инвазин и изолирует железо из клеток хозяина. Наличие ALS генов подтверждено также для патогенных видов *C. dubliniensis*, *C. tropicalis*, *C.*

parapsilosis, *C. lusitaniae* и *C. guilliermondii* [3, 10, 14, 15].

Адгезины Hwp1, Hwp2 и Rbt1 образуют семейство ассоциированных с клеточной стенкой гиф белков *C. albicans*. Одним из медиаторов, способным образовывать прочные прикрепления к эпителиальным клеткам человека, является поверхностный гифальный белок Hwp1, который встречается только на поверхности ростковых трубок и гиф. Гомологи Rbt1 обнаружены у видов *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* и *C. orthopsilosis*, гомолог Hwp1 – у *C. dubliniensis* и *C. tropicalis*. Благодаря этим белкам адгезии грибы могут колонизировать покрытые слюной или фибронектином поверхности, полистирол и силикон, участвуют в формировании биопленки и агрегации клеток [5, 10, 13].

Адгезин Ear1 находится в клеточных стенках *C. albicans* как в дрожжевых, так и в гифальных формах. Он регулирует их фенотипическое переключение, способствует биопленкообразованию, адгезии к эпителиальным клеткам и полистиролу. Аналогично Als3 и Hwp1, белок Ear1 облегчает взаимодействие с клетками хозяина и бактерией ротовой полости *Streptococcus gordonii* для образования смешанной биопленки из двух видов [15, 16].

Iff/Hyr семейство включает в себя 12 белков *C. albicans*. Наличие белка Hyr1 снижает фагоцитарную активность нейтрофилов в крови в борьбе с *C. albicans* и *C. glabrata*. Благодаря адгезивному белку Iff4 клетки грибов могут колонизировать эпителиоциты и пластмассы [10, 17, 18].

C. albicans экспрессирует семейство SAP, состоящее из 10 генов [3]. Гены от SAP1 до SAP8 отвечают за синтез внеклеточных ферментов, Sap9 и Sap10 представляют собой GPI-закрепленные протеиназы клеточной стенки. Энзимы Sap в большей степени продуцируются в биопленке, чем у свободноживущих клеток, при этом гены SAP5, SAP9 и SAP10 активируются только в биопленках. Благодаря своей протеолитической активности ферменты данного семейства разлагают белки хозяина, чтобы обеспечить собственные клетки азотом, принимают участие в адгезии и колонизации тканей хозяина. Sap6 – многофункциональный белок, являющийся ферментом и адгезином, вызывающим агрегацию гиф и эпителиоцитов в ротовой полости хозяина. Sap9 и Sap10 активируют белки клеточной поверхности Ywp1, Hwp1 и Rbt1 [13, 19].

Для генома *C. glabrata* характерна субтеломерная кластеризация большого семейства сильнородственных генов EPA. Из 23 белков наиболее изученными в семействе Era являются Era1, Era6 и Era7, обеспечивающие взаимосвязь с эпителиальными и эндотелиальными клетками человека. Комплекс SIR совместно с другими генами (RAP1 и ABF1) обеспечивает субтеломерное молчание генов EPA путем

образования петли хроматина [10, 19]. Ограничение *C. glabrata* в доступе никотиновой кислоты из окружающей среды снижает активность белка Sir2p, что приводит к повышенной экспрессии генов EPA [16].

Для вида *C. glabrata* характерно также семейство генов PWP, кодирующих семь белков адгезии *C. glabrata* от Pwp1 до Pwp7 [6]. Возможно, что белки Pwp также являются лектинами, обеспечивающими агрегацию клеток грибов во время формирования биопленки. В клеточной стенке данного вида дрожжей отсутствуют адгезины, локализованные на гифах и псевдогифах у других видов [10].

В противовес вышеописанным механизмам формирования клеточного конгломерата грибами рода *Candida* организм хозяина выработал свои стратегии противостояния при развитии кандидозной инфекции. Рассмотрим некоторые из них.

Внешние, постоянно слущивающиеся слои кожи представляют собой эффективный барьер, препятствующий проникновению микроорганизмов в более глубокие ткани. К защитным механизмам кожных покровов также относятся выработка пота, кожного сала, трансферрина и антимикробных пептидов, способных убивать многие виды бактерий и грибов. В коже новорожденных детей вырабатывается антимикробный пептид кателицидин LL-37, а в коже взрослых – β -дефенсин (hBD-2). Кожа также оснащена интраэпителиальными T- и B-клетками и рядом фагоцитов [3, 7].

Неспецифическая гуморальная резистентность пищеварительного тракта обусловлена выработкой веществ, обладающих фунгицидными свойствами. Так, в ротовой полости маннозосвязывающий протейн, муцины, лизоцим, трансферрин и лактоферрин, церулоплазмин, белки острой фазы и другие факторы, выделяемые со слюной, способны подавлять рост и вызывать гибель клеток грибов рода *Candida* [15].

Свой вклад в борьбу с патогенными грибами рода *Candida* вносят и представители нормальной микробиоты человека, конкурируя с ними за питательные вещества и экологическую нишу, в которой они обитают [4]. При лечении инфекционных заболеваний применение широкого спектра антибиотиков приводит к нарушению баланса нормальной микробиоты, вследствие чего дрожжи переходят в вирулентное состояние и проявляют свои патогенные свойства [3, 6].

Организм человека может также косвенно влиять на жизнедеятельность грибов для предотвращения развития инфекции, ограничивая патогенные организмы в доступе питательных микроэлементов (например, цинка, железа, марганца, меди). Ограничение грибов в доступе железа приводит к снижению их роста и вирулентности, так как данный микроэлемент является кофактором для множества белков,

участвующих в клеточной энергетике, репликации ДНК, экспрессии генов, пролиферации клеток и других аспектах клеточного метаболизма грибов [3, 16].

У представителей рода *Candida* есть свои механизмы противостояния иммунной системе человека. Так, клетки *C. albicans*, поглощенные фагоцитами, механически разрушают их плазмолемму ростом собственных гиф [6], а *C. glabrata* способны размножаться внутри макрофагов [20].

Для современной медицины лечение кандидозной инфекции становится все более трудоемким процессом. На это влияют несколько факторов. Во-первых, в большинстве случаев клеточный конгломерат в организме хозяина представляет собой гетеротипическую ассоциацию из грибных и бактериальных клеток, поэтому необходимы разработка и применение комплексных препаратов с антимикотическим и антибактериальным эффектом действия [20, 21].

Оральные стрептококки *Streptococcus gordonii* и *S. oralis* являются первичными колонизаторами поверхностей полости рта и обеспечивают основу для формирования гетеротипической ассоциации с *C. albicans*, что способствует развитию и сохранению полимикробного сообщества. В такой биопленке стрептококки содействуют росту, образованию гиф и вирулентности *C. albicans*, а грибок усиливает патогенные свойства бактерий [13, 22].

Во-вторых, постоянно возникающие мутации в геноме грибов рода *Candida* делают их более вирулентными. Например, единственный нуклеотидный обмен в гене, кодирующем хитинсинтазу, привел к фенотипическим изменениям вида *C. glabrata*, который стал способен образовывать псевдогифы с аномальным строением перегородок и более толстой клеточной стенкой [20].

В-третьих, в результате микологических исследований появляются все новые факты о грибах рода *Candida*, которые ранее не были известны науке. В 2013 г. был описан новый фенотип удлинённых дрожжевых GUT-клеток, приспособленных к обитанию в желудочно-кишечном тракте, для штамма *C. albicans*, для которых характерно изменение в метаболизме железа, глюкозы и в поглощении фосфатов [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биопленки, образованные грибами рода *Candida*, будут всегда представлять огромный интерес для медицины, так как являются фактором, затрудняющим лечение кандидозной инфекции. Это обусловлено тем, что благодаря спонтанным мутациям появляются штаммы, резистентные к зарекомендовавшим себя антифунгальным препаратам. Также увеличивается количество видов, ранее считавшихся безобидными для организма млекопитающих.

ших, но приспособившихся к новой среде обитания. Для ученых разработка лекарств, способных подавлять жизнедеятельность не только грибов, но и бактерий, образующих вместе с ними многовидовую ассоциацию, остается актуальной задачей.

При развитии кандидозной инфекции огромное значение играют компоненты клеточной стенки грибов, ответственные не только за прикрепление и проникновение в клетки и ткани макроорганизма, а также за дисперсию бластоспор, позволяющую поражать различные системы органов. Поэтому для лучшего понимания патогенеза микотической инфекции, вызванной грибами рода *Candida*, необходимо накапливать знания об этапах формирования биопленок, морфологических и физиологических особенностях клеток грибов, их обуславливающих.

При лечении микозов важно учитывать клеточное строение не только патогенных микроорганизмов, но и хозяина. Это определено тем, что действие лекарственных препаратов должно быть направлено только на те компоненты, которые специфичны для

микроорганизмов, но отсутствуют в клетках животных. Также необходим поиск фунгицидов, которые будут способны подавлять экспрессию генов, ответственных за адгезию, инвазию и образование биопленок на биотических и абиотических поверхностях.

В заключение отметим, что борьба, сложившаяся в ходе эволюции между организмом человека и грибами, бесконечна, но благодаря современным научным методам и результатам в ходе различных исследований человек получил преимущество в этом противостоянии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. В данной работе не было никаких экспериментальных исследований, в которых были использованы в качестве объектов люди или животные.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Abdulkhair W.M.H.* The yeast role in medical applications. IntechOpen, 2018; 176 p. doi.org/10.5772/intechopen.69408
2. *Чернов И.Ю.* Дрожжи в природе. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2013; 336 с. [Chernov I.Yu. Yeast in nature. M.: Association of scientific publications KMK, 2013; 336 p. (In Russ)].
3. *Kavanagh K.* Fungi: Biology and Applications. 3rd Edition. Wiley-Blackwell, 2017; 416 p. doi.org/10.1002/9781119374312
4. *Гаффарова А.С., Хайтович А.Б.* Факторы патогенности *Candida albicans* и их ПЦР-идентификация. Успехи медицинской микологии. 2017; 17: 130-133. [Gaffarova A.S., Khaytovich A.B. Pathogenicity factors of *Candida albicans* and their PCR identification. Advances in medical mycology. 2017; 17: 130-133 (In Russ)].
5. *Ryan K.J., Ahmad N., Weissman S., et al.* Medical Microbiology. 7th Edition. McGraw-Hill Education, 2018; 1056 p.
6. *Hardison S.E., Brown G.D.* C-type lectin receptors orchestrate antifungal immunity. Nature Immunology. 2012; 13 (9): 817-822. doi.org/10.1038/ni.2369
7. *Chebotar I.V., Novikov I.A., Subbot A.M. & Mayansky N.A.* Lanthanoid staining as a fast technology of preparing microbiological specimens for scanning electron microscopy. Modern technologies in medicine. 2017; 9 (3): 23-29. doi:10.17691/stm2017.9.3.03
8. *Juyal D., Sharma M., Pal S., et al.* Emergence of non-albicans *Candida species* in neonatal candidemia. North American Journal of Medical Sciences. 2013; 5 (9): 541-545. doi.org/10.4103/1947-2714.118919
9. *Капустина О.А., Карташова О.Л.* Факторы патогенности грибов рода *Candida* и возможность их регуляции эфирными маслами. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2013; 1: 3. [Kapustina O.A., Kartashova O.L. Pathogenic factors of *Candida sp.* and their regulation by essential oils. Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 2013; 1: 3 (In Russ)].
10. *de Groot P.W.J., Bader J., de Boer A.D., et al.* Adhesins in human fungal pathogens: glue with plenty of stick. Eukaryotic cell. 2013; 12 (4): 470-481. doi.org/10.1128/EC.00364-12
11. *Vitenshtein A., Charpak-Amikam Y., Yamin R., et al.* NK cell recognition of *Candida glabrata* through binding of NKp46 and NCR1 to fungal ligands Epa1, Epa6, and Epa7. Cell host & microbe. 2016; 20 (4): 527-534. doi.org/10.1016/j.chom.2016.09.008
12. *Kumar R., Saraswat D., Tati S., Edgerton M.* Novel aggregation properties of *Candida albicans* secreted aspartyl protease Sap6 mediate virulence in oral candidiasis. Infection and immunity. 2015; 83 (7): 2614-2626. doi.org/10.1128/IAI.00282-15
13. *Dutton L. C., Jenkinson H. F., Lamont R. J., Nobbs A. H.* Role of *Candida albicans* secreted aspartyl protease Sap9 in interkingdom biofilm formation. FEMS Pathogens and Disease. 2016; 74 (3): ftw005. doi.org/10.1093/femspd/ftw005

14. Aoki W., Kitahara N., Miura N., et al. Profiling of adhesive properties of the agglutinin-like sequence (ALS) protein family, a virulent attribute of *Candida albicans*. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2012; 65 (1): 121-124. doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00941.x
15. Hoyer L.L., Cota E. *Candida albicans* agglutinin-like sequence (Als) family vignettes: a review of Als protein structure and function. Frontiers in microbiology. 2016; 7: 280. doi.org/10.3389/fmicb.2016.00280
16. Halliwell S.C., Smith M.C., Muston P., et al. Heterogeneous expression of the virulence-related adhesin Epa1 between individual cells and strains of the pathogen *Candida glabrata*. Eukaryotic cell. 2012; 11 (2): 141-150. doi.org/10.1128/EC.05232-11
17. Luo G., Ibrahim A.S., Spellberg B., et al. *Candida albicans* Hyr1p confers resistance to neutrophil killing and is a potential vaccine target. The Journal of Infectious Diseases. 2010; 201 (11): 1718-1728. doi.org/10.1086/652407
18. Boisramé A., Cornu A., Da Costa G., Richard M.L. Unexpected role for a serine/threonine-rich domain in the *Candida albicans* Iff protein family. Eukaryotic cell. 2011; 10 (10): 1317-1330. doi.org/10.1128/EC.05044-11
19. Maestre-Reyna M., Diderrich R., Veelders M.S., et al. Structural basis for promiscuity and specificity during *Candida glabrata* invasion of host epithelia. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012; 109 (42): 16864-16869. doi.org/10.1073/pnas.1207653109
20. Brunke S., Seider K., Fischer D., et al. One small step for a yeast-microevolution within macrophages renders *Candida glabrata* hypervirulent due to a single point mutation. PLoS pathogens. 2014; 10 (10): e1004478. doi.org/10.1371/journal.ppat.1004478
21. Bertolini M.M., Xu H., Sobue T., et al. *Candida*-streptococcal mucosal biofilms display distinct structural and virulence characteristics depending on growth conditions and hyphal morphotypes. Molecular oral microbiology. 2015; 30 (4): 307-322. doi.org/10.1111/omi.12095
22. Jack A.A., Daniels D.E., Jepson M.A., et al. *Streptococcus gordonii* com CDE (competence) operon modulates biofilm formation with *Candida albicans*. Microbiology. 2015; 161 (Pt 2): 411. doi.org/10.1099/mic.0.000010
23. Malavia D., Lehtovirta-Morley L.E., Alamir O., et al. Zinc limitation induces a hyper-adherent goliath phenotype in *Candida albicans*. Frontiers in microbiology. 2017; 8: 2238. doi.org/10.3389/fmicb.2017.02238

Поступила в редакцию журнала 15.11.2021

Рецензент: Т.С. Богомолова

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ, КЛИНИКЕ И ТЕ- ЧЕНИИ ТЯЖЕЛОГО ПСОРИАЗА

¹Аликбаев Т.З. (аспирант)*, ¹Фролова Е.В. (зав. лаб.), ¹Гулордава М.Д. (зав. отд.), ²Максимова М.Д. (зав. отд.), ¹Учеваткина А.Е. (с.н.с.), ¹Филиппова Л.В. (с.н.с. доцент), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой), ¹Разнатовский К.И. (зав. кафедрой)

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

Псориаз – хроническое иммуновоспалительное заболевание, преимущественно поражающее кожу. Бляшечный псориаз является наиболее распространенной формой заболевания. Современные представления о патогенезе, генетике, сопутствующих заболеваниях и применении генно-инженерных биологических препаратов способствуют достижению высоких и быстрых результатов в лечении псориаза. Псориаз связан с рядом сопутствующих заболеваний, включая псориатический артрит, кардиометаболические заболевания, депрессию и болезнь Крона. В связи с иммуноопосредованной природой псориаза патогенетически обосновано, совместно с контролем клинических показателей, у больных с тяжелой формой псориаза проводить оценку иммунного статуса в динамике.

Ключевые слова: псориаз, сопутствующие заболевания, патогенез, иммунитет, Т-лимфоциты, цитокины

MODERN IDEAS ABOUT THE PATHOGENESIS, CLINIC AND TREATMENT OF SEVERE PSORIASIS

¹Alikbaev T.Z. (postgraduate student), ¹Frolova E.V. (head of the laboratory), ¹Gulordava M.D. (head of the clinical department), ²Maksimova M.D. (head of the clinical department), ¹Uchevatkina A.E. (senior scientific researcher), ¹Filippova L.V. (senior scientific researcher, associate professor), ¹Vasilieva N.V. (director of the institute, head of the department), ¹Raznatovskiy K.I. (head of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ²City Skin and Venereal Dispensary, St. Petersburg, Russia

* Контактное лицо: Аликбаев Тимур Зарифович, e-mail: Timur.Alikbaev@szgmu.ru

Psoriasis is a chronic immune-inflammatory disease that mainly affects the skin. Plaque psoriasis is the most common form of the disease. Modern ideas about pathogenesis, genetics, concomitant diseases and the use of genetically engineered biologics contribute to achieving high and rapid results in the treatment of psoriasis. Psoriasis is associated with a number of comorbidities, including psoriatic arthritis, cardiometabolic diseases, depression and Crohn's disease. In connection with the immune-mediated nature of psoriasis, it is pathogenetically substantiated, along with the control of clinical parameters, to assess the immune status in dynamics in patients with severe psoriasis.

Key words: psoriasis, comorbid diseases, pathogenesis, immunity, T-lymphocytes, cytokines

Псориаз (Пс) – это хроническое иммуновоспалительное заболевание кожи, поражающее (согласно данным ВОЗ на 2016 г.) около 125 миллионов человек во всем мире [1]. Бляшечный (вульгарный, обыкновенный) псориаз является наиболее распространенной формой, на нее приходится более 80% случаев заболевания. Другие клинические формы псориаза: каплевидный псориаз, пустулезный псориаз, инверсный псориаз, псориатическая эритродермия, артропатический псориаз (псориатический артрит). Псориаз характеризуется эритематозными чешуйчатymi папулами, сливающимися в бляшки, которые обычно возникают на разгибательных поверхностях кожи, но также могут поражаться области складок, ладони, подошвы и ногти. Псориаз в одинаковой степени поражает мужчин и женщин, чаще взрослых, чем детей [2-4]. Современные представления о патогенезе, генетике, сопутствующих заболеваниях и применении генно-инженерных биологических препаратов способствуют достижению высоких и быстрых результатов в лечении псориаза. Его патогенез связан с воспалительным механизмом обратной связи, включающим в первую очередь путь Т-хелперов 17-го типа (Th17). Решающую роль в развитии псориаза играют генетические факторы, однако усугубить течение заболевания могут факторы окружающей среды, образ жизни пациента.

Распространенность

Во всем мире, согласно глобальному исследованию ВОЗ на 2016 г., около 125 миллионов человек страдают псориазом, однако его распространенность сильно варьирует в разных регионах: от 0,5% – в некоторых частях Азии до 8% – в Норвегии [1, 5, 6]. В Российской Федерации, по данным официальной статистики, в 2018 г. уровень распространенности заболевания составил 242,4 случая на 100 тыс. населения. Наиболее высокая общая заболеваемость псориазом наблюдается в Северо-Западном, Приволжском и Дальневосточном федеральных округах, где зарегистрированы максимальные показатели [7]. В Соединенных Штатах псориаз поражает примерно 3,2% взрослых и 0,13% детей [2-4]; первичная забо-

леваемость составляет около 80 новых случаев на 100 000 человек в год [5]. В большинстве регионов существенных различий по гендерному принципу в структуре распространенности заболевания не определяется, женщины и мужчины страдают одинаково [5].

Псориаз может проявиться в любом возрасте, но существует бимодальное распределение по возрасту для проявления псориаза – от 18 до 39 лет, а также от 50 до 69 лет [5]. Согласно исследованиям Nair R.P., Stuart P.E., Nistor I. и соавт. (2006), генетические факторы и факторы окружающей среды могут влиять на возраст начала проявления заболевания. Так, наличие аллеля человеческого лейкоцитарного антигена (HLA)-C*06 связано с более ранним дебютом псориаза.

Факторы риска

К факторам риска развития псориаза относятся генетические, состояние среды обитания и образ жизни, причем наибольший вклад вносят генетические факторы [9]. В 21 веке был достигнут значительный прогресс в понимании генетики псориаза. Заболевание является полигенетическим, при котором множественные идентифицированные аллели (HLA-Cw6, HLA-DQ*02:01, CCHCR1 и CYP1A1) и локусы (PSORS1-9, PSORSAS1) создают генетические риски для его развития [8]. По данным Andressen C. и соавт. (1982), риск развития псориаза составляет приблизительно 40%, если страдают оба родителя, 14% – если страдает один из родителей, 6% – если страдает брат или сестра. У генетически восприимчивых людей псориаз может усугубляться рядом факторов внешней среды и поведенческих факторов, включая травмы кожи, инфекции, курение, злоупотребление алкоголем, прием лекарственных средств и стресс, однако у большинства пациентов внешние триггеры псориаза неизвестны [9].

Клиническая картина

Вульгарный (бляшечный) псориаз по частоте встречаемости составляет примерно 80-90% от всех клинических форм заболевания [1]. Бляшечный псориаз клинически проявляется эритематозно-сквамозными бляшками, покрытыми слоистыми серебристо-белыми чешуйками [10]. В то время как бляшечный псориаз может возникнуть на любой локализации тела человека, наиболее часто поражаемыми участками являются кожа головы, туловище, ягодицы и разгибательные поверхности конечностей (локти и колени). Поражения при обыкновенном псориазе могут варьировать от небольших эритематозных и чешуйчатых папул до больших толстых бляшек. Пораженные участки, как правило, четко разграничены и часто симметричны. Для заболевания характерно наличие псориатической триады, проявляющейся последовательно возникающими при снятии чешуек с папулезного элемента (поскаб-

ливании) феноменами: стеаринового пятна; терминальной пленки; точечного кровотечения. Характерен для заболевания феномен Кебнера – новые очаги псориаза могут развиваться в месте травмы, например, от царапин, порезов или давления. Клиническим критерием у пациентов при псориазе средней или тяжелой степени тяжести в период обострения является сильный зуд. Бляшечный псориаз оказывает непропорциональное от степени тяжести влияние на качество жизни больного, особенно в случае, когда затрагиваются определенные области: лицо, ладони, подошвы, ногти, области складок (подмышечные, инфрамаммарные и аногенитальная область). Волосяная часть головы при псориазе часто поражается первой, и нередко высыпания сохраняются в течение многих лет, тогда как на других участках кожного покрова они исчезают [11]. В случаях, когда бляшечный псориаз поражает ладони и подошвы, у пациентов развиваются толстые, чешуйчатые и болезненные бляшки, которые ограничивают подвижность и функционирование рук и ног.

Клинические особенности псориаза различаются в зависимости от форм заболевания. Общепринятой классификации псориаза нет [12]. Традиционно к клиническим формам заболевания относят: бляшечный псориаз, каплевидный псориаз, пустулезный псориаз, псориатическую эритродермию, артропатический псориаз [13]. Несмотря на то, что один вариант заболевания обычно преобладает у отдельного человека, различные клинические формы могут одновременно сосуществовать в любой отдельный момент времени.

У отдельных больных локализация псориатической сыпи бывает обратной обычной. Это так называемый обратный (инверсный) псориаз, так как вместо разгибательных поверхностей при форме страдают сгибательные [12]. Особой локализацией проявления высыпаний при инверсной форме псориаза является аногенитальная область. Такое поражение встречается примерно у одной трети больных псориазом и связано со значительным снижением качества жизни пациентов.

Сопутствующие заболевания, связанные с псориазом

Изменения представления о патогенезе заболевания, междисциплинарный подход к лечению пациентов, способствовали значительному прогрессу определения сопутствующих заболеваний, связанных с псориазом. Примерно у одной трети пациентов с псориазом в течение жизни развивается псориатический артрит (ПсА). У 85% больных с псориатическим артритом псориаз либо предшествует ПсА, либо возникает одновременно с ним [14]. Псориатический артрит характеризуется скованностью, болью, отеком суставов и может прогрессировать вплоть до их разрушения. Псориатическое изъязвле-

ние ногтей и онихолиз наблюдаются у 80-90% пациентов с псориатическим артритом. Скрининг на псориатический артрит может быть проведен с помощью различных скрининговых анкет, таких как PEST (чувствительность – 77%; специфичность – 37%) [15, 16]. Псориатический артрит может быть классифицирован с использованием критериев CASPAR (классификация псориатического артрита) (чувствительность – 99,7%, специфичность – 99,1%) [17]. Согласно критериям CASPAR, пациентам с воспалительным артритом верифицируется псориатический артрит на основании наличия псориаза и (или) поражений ногтей, дактилита, отрицательного ревматоидного фактора и (или) наличия роста околоуставных остеофитов на рентгенограмме. Важно отличать псориатический артрит от других заболеваний суставов у больных псориазом, потому что только 56% лиц с псориазом и симптомами поражения суставов имеют псориатический артрит (Mody E., et al, 2007).

Пациенты с тяжелым течением псориаза или началом заболевания в молодом возрасте подвергаются более высокому риску кардиометаболических сопутствующих заболеваний, чем население в целом [18-22]. Отмечено, что частота встречаемости кальцификации коронарных артерий средней или тяжелой степени у больных псориазом аналогична таковой у пациентов с сахарным диабетом 2 типа (18,6% против 20,9%) [18]. Кроме того, у лиц с псориазом выявляется высокая распространенность коронарных атеросклеротических бляшек высокого риска (34%) аналогично распространенности у лиц с гиперлипидемией (38%) [19]. Тяжелое течение псориаза связано с повышенным риском инфаркта миокарда, инсульта и сердечно-сосудистой смертности и является независимым фактором риска этих неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов [23-27].

По сравнению с общей популяцией, пациенты с псориазом подвержены более высокому риску депрессии, тревоги и суицидальных мыслей [28-30]. Псориаз и болезнь Крона имеют одинаковые локусы восприимчивости на хромосоме 16q, что может объяснить высокую распространенность воспалительных заболеваний кишечника у больных псориазом по сравнению с общей популяцией (1,6% против 0,4%) [31, 32].

Патогенез псориаза

Патогенез псориаза до конца не изучен [33, 34]. Однако в настоящее время установлена важная роль иммунопосредованного воспаления, которое обусловлено сложными механизмами взаимодействия кератиноцитов с клетками врожденного (миелоидные и плазмочитарные дендритные клетки, макрофаги, НК- и НКТ-клетки) и адаптивного иммунитета (Т-лимфоциты) [35, 36]. От степени иммунологических нарушений, дисбаланса цитокиновой регуляции

межклеточных взаимодействий зависят тяжесть течения и исход заболевания. Считается, что чрезмерная активация клеток адаптивной иммунной системы занимает центральное место в патогенезе псориаза [37].

На начальных этапах патогенеза псориаза кератиноциты, плазмацитоидные дендритные клетки, НКТ-клетки и макрофаги секретируют провоспалительные цитокины, которые активируют миелоидные дендритные клетки. Например, в результате действия повреждающих факторов кератиноциты выделяют антимикробные пептиды, такие как β -дефензин, S100 белки и кателицидин LL37. Пептид LL37 способен связывать как чужеродную свободную ДНК, так и собственную ДНК, выделяющуюся из разрушенных кератиноцитов. Образовавшиеся комплексы активируют плазмацитоидные и миелоидные дендритные клетки (ДК) посредством связывания с рецепторами распознавания образов (PRRs) семейства толл-подобных рецепторов (TLR). Активация TLR7, TLR8, TLR9 индуцирует выработку провоспалительных цитокинов, включая фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α), интерлейкин (IL)-1 β , IL-6, IL-18 и интерфероны I типа IFN- α и IFN- β [32, 35]. После активации миелоидные ДК захватывают чужеродные антигены и перемещаются в местные лимфатические узлы. Установлено, что миелоидные ДК, локализованные в пораженной псориазом коже, секретируют повышенное количество IL-12 и IL-23. Интерлейкин-12 индуцирует дифференцировку наивных Т-клеток в Т-хелперы 1-го типа (Th1). Интерлейкин-23 играет центральную роль в пролиферации Th17 и Th22. Th1 секретируют IFN- γ и TNF- α , Th22 продуцирует IL-22, а Th17 вырабатывает IL-17, IL-22 и TNF- α . Среди этих путей, как полагают, преобладает активация Th17, опосредованная IL-23, которая стимулирует тирозин-протеинкиназу 2, янус-киназу 2 (Tyk2-Jak2) и сигнальный белок STAT3, что приводит к транскрипции ключевых медиаторов воспаления [37, 39]. Цитотоксические CD8⁺Т-клетки (Тс17-клетки) также являются продуцентами IL-17 и интенсивно инфильтрируют эпидермис больных с псориазом [40, 41]. НКТ-клетки (которые имеют общие черты как с Т-лимфоцитами, так и с НК-клетками) составляют гетерогенную подгруппу иммунных клеток, количество которых значительно увеличивается в коже при псориатическом поражении и которые, вероятно, участвуют в патогенезе псориаза [36]. Подобно субпопуляциям патогенных Т-клеток, эти клетки обладают способностью продуцировать провоспалительные цитокины, такие как IFN- γ , IL-17, TNF- α , и экспрессировать хемокиновые рецепторы CXCR3, CCR5 и CCR6, способствующие их привлечению в пораженные участки кожи [35, 38]. Однако их роль в патогенезе болезни еще полностью не изучена. В совокупности, цитоки-

ны, секретируемые различными клетками, вызывают пролиферацию кератиноцитов, повышенную экспрессию медиаторов воспаления и молекул адгезии эндотелия, а также способствуют проникновению

иммунных клеток в пораженную кожу. Это приводит к воспалительному каскаду, который проявляется псориатической болезнью (Рис.1).

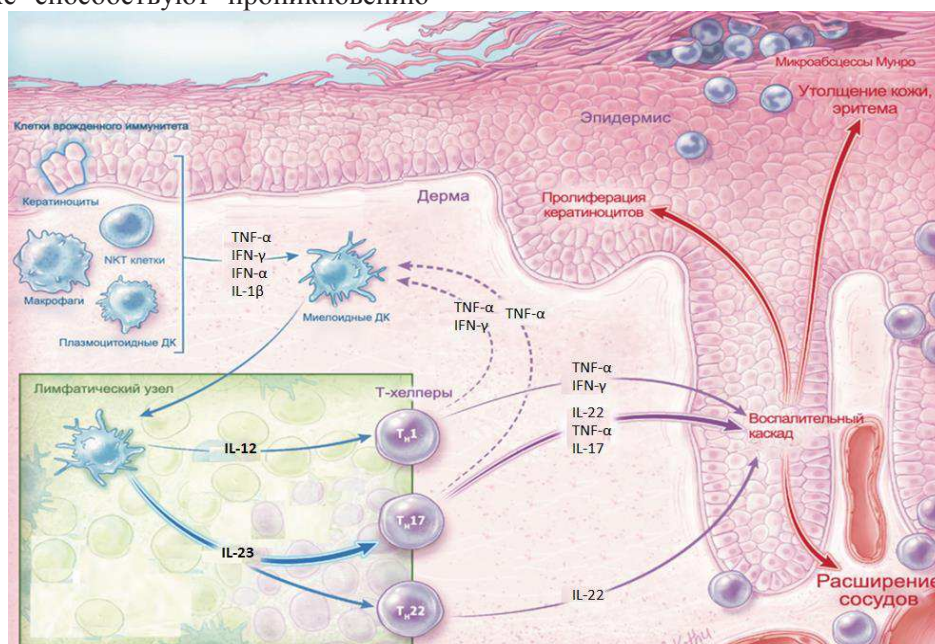


Рис.1. Патогенез псориаза [37].

Клинико-иммунологические примеры

В ряде научных работ изучены особенности клеточного состава пораженной кожи больных псориазом [42, 43]. Менее известно об изменениях субпопуляционного состава клеток крови у данной категории больных [44]. В нашем исследовании проведено изучение субпопуляционного состава лимфоцитов пациентов с тяжелой формой псориаза, получавших терапию генно-инженерным биологическим препаратом (ГИБП) и базовым противовоспалительным препаратом (БПВП) в течение 24 недель. Иммунофенотипирование клеток периферической крови выполняли методом 6-цветного цитофлуориметрического анализа с использованием проточного цитометра Navios™ (Beckman Coulter, США).

Приводим собственные наблюдения.

Пациент, 46 лет. Основной диагноз: распространенный псориаз, тяжелая форма течения. Сопутствующие заболевания: псориатический артрит; гипертоническая болезнь II ст.; артериальная гипертензия 2 ст.; риск сердечно-сосудистых осложнений (ССО) 3.

При первичном наблюдении у больного отмечали распространенные, симметричные высыпания в виде множественных папул, сливающихся в обширные бляшки, с активным шелушением на поверхности, затрагивающие волосистую часть головы, туловище, верхние и нижние конечности. Клинические индексы при первичном наблюдении: PASI 29,7; DLQI 16.

Проводимое лечение: БПВП (таб. метотрексат 15 мг, таб. фолиевая кислота 5 мг в неделю), наруж-

ная терапия (топические глюкокортикостероиды в течение 2 недель, салициловая мазь 2%).

При повторном наблюдении через 24 недели у пациента высыпания частично разрешились, однако отмечали наличие бляшек в области верхних, нижних конечностей, волосистой части головы. Клинический индекс – PASI 7,0.

При исследовании субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в динамике у больного псориазом, получавшего БПВП, сохранялись высокие значения абсолютного числа CD4⁺T-хелперов ($1,6 \times 10^9/\text{л}$ и $1,9 \times 10^9/\text{л}$ против $1,1 \times 10^9/\text{л}$), цитотоксических CD8⁺T-клеток ($1,1 \times 10^9/\text{л}$ и $1,24 \times 10^9/\text{л}$ против $0,55 \times 10^9/\text{л}$) и NKT-клеток ($0,44 \times 10^9/\text{л}$ и $0,37 \times 10^9/\text{л}$ против $0,05 \times 10^9/\text{л}$) по сравнению с показателем здорового, соответствующего по возрасту и полу (Рис. 2).

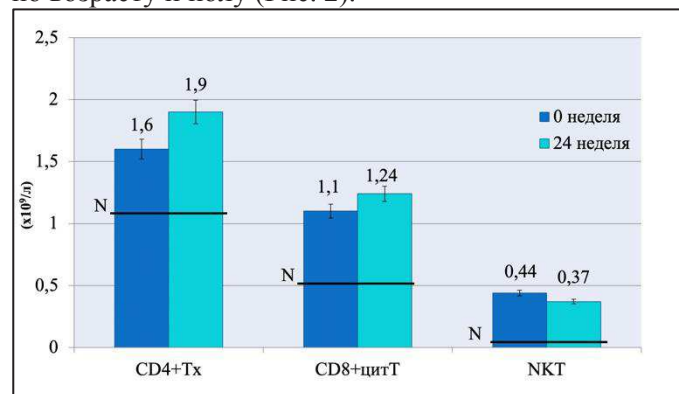


Рис. 2. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в динамике у больного псориазом, получавшего БПВП.

Пациент, 39 лет. Основной диагноз: распространенный псориаз, тяжелая форма течения. Сопутствующие заболевания: псориазический артрит; хронический гастрит, ремиссия.

При первичном наблюдении у больного отмечали схожую клиническую картину, как у пациента из первого примера: распространенные, симметричные высыпания в виде множественных папул, сливающихся в обширные бляшки, с активным шелушением на поверхности, затрагивающие волосистую часть головы, туловище, верхние и нижние конечности, поражение аногенитальной области. Клинические индексы при первичном наблюдении: PASI 30,6; DLQI 17.

Проводимое лечение: ГИБП (р-р. Нетакимаб 120 мг п/к на 0,1,2 неделях, затем 1 раз в 4 недели), наружная терапия (топические глюкокортикостероиды в течение 2 недель, салициловая мазь 2%).

При повторном наблюдении через 24 недели у пациента отмечали разрешение высыпаний, единичные вторичные пятна в области верхних конечностей. Клинический индекс – PASI 0,8.

При базовом исследовании иммунологических показателей выявили сходные с первым клиническим случаем изменения в субпопуляционном составе лимфоцитов. Однако после проведения ГИБП установлена нормализация абсолютного числа CD4⁺Т-хелперов (1,07x10⁹/л против 1,1x10⁹/л контрольного показателя) и NKT-клеток (0,06x10⁹/л против 0,05x10⁹/л контрольного показателя), выявлена тенденция к снижению количества цитотоксических CD8⁺Т-клеток (1,07x10⁹/л против 0,55±0,02x10⁹/л контрольного показателя) (Рис. 3). Полученные данные свидетельствуют об ослаблении хронического воспалительного процесса, вызванного аутоиммунным заболеванием.

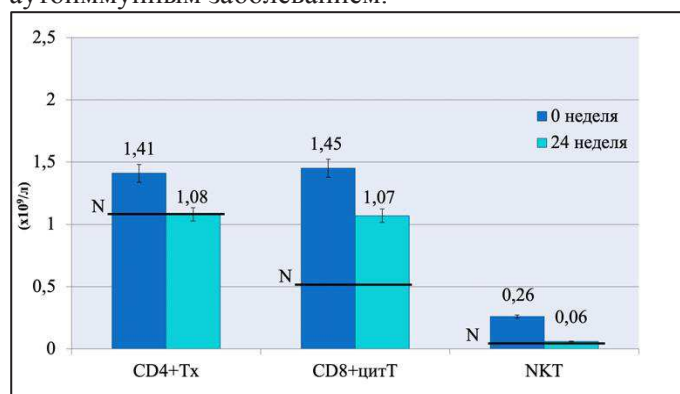


Рис. 3. Исследование иммунологических показателей у пациента, получавшего терапию ГИБП.

ОБСУЖДЕНИЕ

Псориаз – хроническое заболевание кожи, связанное с многочисленными сопутствующими заболеваниями и существенно снижающее качество жизни пациентов.

В результате проведенного исследования установлена активация клеточного иммунного ответа у больных псориазом с ведущей ролью цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-хелперов и NKT-клеток. При схожих исходных данных оценки поражения кожных покровов (PASI 29,7 и PASI 30,6 соответственно), качества жизни пациентов (DLQI 16 и DLQI 17 соответственно) и иммунологического статуса, динамическое наблюдение за изменением поражения кожных покровов и иммунологическими показателями в течение 24 недель демонстрирует биологическое разнообразие иммунологических ответов и обоснованность параллельного контроля данных показателей.

Учитывая, что целью лечения при псориазе является уменьшение тяжести и распространенности высыпаний до состояния чистой или почти чистой кожи (индекс PASI ≤ 3) и улучшения качества жизни больных (индекс DLQI ≤ 5) [45], а также необходимость назначения высоких доз базовых противовоспалительных препаратов при тяжелых формах заболевания, что повышает риск развития побочных эффектов БПВП, отсутствие достижения конечных целей терапии является одним из условий перехода на ГИБТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патогенетически псориаз рассматривается как иммуновоспалительное заболевание, в основе которого лежит активация Th1 и Th17 с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов TNF-α, IFN-γ, IL-17 и IL-22. В связи с иммуноопосредованной природой псориаза патогенетически обосновано, совместно с контролем клинических показателей, у пациентов с тяжелой формой псориаза проводить оценку иммунного статуса в динамике. Учитывая патогенетические данные, опыт наблюдения за больными, имеющими схожее течение заболевания, применение ГИБП в терапии тяжелых форм псориаза коррелирует с улучшением клинических результатов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Global Report on Psoriasis: World Health Organization, 2016. Accessed December 1, 2021. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204417>
2. Michalek I.M., Loring B., John S.M. A systematic review of worldwide epidemiology of psoriasis. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2017; 31 (2): 205-212. doi:10.1111/jdv.13854

3. *Rachakonda T.D., Schupp C.W., Armstrong A.W.* Psoriasis prevalence among adults in the United States. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2014; 70 (3): 512-516. doi:10.1016/j.jaad.2013.11.013
4. *Paller A.S., Singh R., Cloutier M., et al.* Prevalence of psoriasis in children and adolescents in the United States: a claims-based analysis. *J. Drugs Dermatol.* 2018; 17 (2): 187-194. PMID: 29462227
5. *Разнатовский К.И., Древаль Р.О., Жукова О.В. и др.* Оценка экономического бремени и текущего состояния организации лекарственного обеспечения пациентов с псориазом в Российской Федерации. *Клиническая дерматология и венерология.* 2021; 20 (3): 8-16. [Raznatovsky K.I., Dreval R.O., Zhukova O.V., et al. Assessment of the economic burden and the current state of the organization of drug provision for patients with psoriasis in the Russian Federation. *Clinical dermatology and venereology.* 2021; 20 (3): 8-16 (In Russ)]. doi.org/10.17116/klinderma2021200318
6. *Parisi R., Symmons D., Griffiths C., et al.* Identification and management of psoriasis and associated comorbidity (IMPACT) project team. *Global epidemiology of psoriasis: a systematic review of incidence and prevalence.* *J. Invest. Dermatol.* 2013; 133 (2): 377-385. doi:10.1038/jid.2012.339
7. *Tsai T.F., Wang T.S., Hung S.T., et al.* Epidemiology and comorbidities of psoriasis patients in a national database in Taiwan. *J. Dermatol. Sci.* 2011; 63 (1): 40-46. doi:10.1016/j.jdermsci.2011.03.002
8. *Tsoi L.C., Stuart P.E., Tian C., et al.* Large scale meta-analysis characterizes genetic architecture for common psoriasis associated variants. *Nat Commun.* 2017; 8:15382. doi:10.1038/ncomms15382
9. *Armstrong A.W.* Psoriasis provoked or exacerbated by medications: identifying culprit drugs. *JAMA Dermatol.* 2014; 150 (9): 963. doi:10.1001/jamadermatol.2014.1019
10. *Жукова О.В., Касихина Е.И., Острецова М.Н., Потеекаев Н.Н.* Новые возможности системной терапии бляшечного псориаза ингибитором ИЛ23p19 рисанкизумабом. *Медицинский совет.* 2021; (8): 40-50. [Zhukova O.V., Kasikhina E.I., Ostretsova M.N., Potekaev N.N. New possibilities of systemic therapy of plaque psoriasis with the IL23p19 inhibitor risankizumab. *Medical Council.* 2021; (8): 40-50 (In Russ)]. doi.org/10.21518/2079-701X-2021-8-40-50
11. *Корнишева В.Г., Смолина О.А., Степанова А.А. и др.* Клинико-морфологические особенности псориаза кожи волосистой части головы в зависимости от контаминации грибами рода *Malassezia*. *Клиническая дерматология и венерология.* 2020; 19 (3): 366-372. [Kornisheva V.G., Smolina O.A., Stepanova A.A., et al. Clinical and morphological features of psoriasis of the scalp depending on contamination by fungi of the genus *Malassezia*. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology.* 2020; 19 (3): 366-372 (In Russ)]. doi.org/10.17116/klinderma202019031366
12. *Разнатовский К.И., Терлецкий О.В.* Псориазная болезнь. Диагностика, терапия, профилактика. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020; 352 с. [Raznatovsky K.I., Terletsky O.V. Psoriatic disease. Diagnosis, therapy, prevention. Moscow: GEOTAR-Media, 2020; 352 p. (In Russ)].
13. *Олисова О.Ю., Бакулев А.Л., Кохан М.М. и др.* К вопросу о классификации псориаза. 2021; 97 (5): 18-25. [Olisova O.Yu., Bakulev A.L., Kokhan M.M., et al. Revisiting the question of psoriasis classification. 2021; 97 (5): 18-25 (In Russ)]. doi.org/10.25208/vdv1267
14. *Yeung H., Takeshita J., Mehta N.N., et al.* Psoriasis severity and the prevalence of major medical comorbidity: a population-based study. *JAMA Dermatol.* 2013; 149 (10): 1173-1179. doi:10.1001/jamadermatol.2013.5015
15. *Tom B.D.M., Chandran V., Farewell V.T., et al.* Validation of the Toronto psoriatic arthritis screen version 2 (ToPAS 2). *J. Rheumatol.* 2015; 42 (5): 841-846. doi:10.3899/jrheum.140857
16. *Coates L.C., Aslam T., Al Balushi F., et al.* Comparison of three screening tools to detect psoriatic arthritis in patients with psoriasis (CONTEST study). *Br. J. Dermatol.* 2013; 168 (4):802- 807. doi:10.1111/bjd.12190
17. *Tillett W., Costa L., Jadon D., et al.* The classification for psoriatic arthritis (CASPAR) criteria – a retrospective feasibility, sensitivity, and specificity study. *J. Rheumatol.* 2012; 39 (1): 154-156. doi:10.3899/jrheum.110845
18. *Mansouri B., Kivelevitch D., Natarajan B., et al.* Comparison of coronary artery calcium scores between patients with psoriasis and type 2 diabetes. *JAMA Dermatol.* 2016; 152 (11): 1244-1253. doi:10.1001/jamadermatol.2016.2907
19. *Lerman J.B., Joshi A.A., Chaturvedi A., et al.* Coronary plaque characterization in psoriasis reveals high-risk features that improve after treatment in a prospective observational study. *Circulation.* 2017; 136 (3): 263-276. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.026859
20. *Armstrong A.W., Harskamp C.T., Ledo L., et al.* Coronary artery disease in patients with psoriasis referred for coronary angiography. *Am. J. Cardiol.* 2012; 109 (7): 976-980. doi:10.1016/j.amjcard.2011.11.025
21. *Dey A.K., Joshi A.A., Chaturvedi A., et al.* Association between skin and aortic vascular inflammation in patients with psoriasis: a case-cohort study using positron emission tomography/computed tomography. *JAMA Cardiol.* 2017; 2 (9): 1013-1018. doi:10.1001/jamacardio.2017.1213
22. *Armstrong A.W., Guerin A., Sundaram M., et al.* Psoriasis and risk of diabetes-associated microvascular and macrovascular complications. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2015; 72 (6): 968-77.e2. doi:10.1016/j.jaad.2015.02.1095
23. *Ahlehoff O., Gislason G.H., Charlot M., et al.* Psoriasis is associated with clinically significant cardiovascular risk: a Danish nationwide cohort study. *J. Intern. Med.* 2011; 270 (2): 147-157. doi:10.1111/j.1365-2796.2010.02310.x

24. Lin H.W., Wang K.H., Lin H.C., Lin H.C. Increased risk of acute myocardial infarction in patients with psoriasis: a 5-year population-based study in Taiwan. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2011; 64 (3): 495-501. doi:10.1016/j.jaad.2010.01.050
25. Ahlehoff O., Gislason G.H., Jorgensen C.H., et al. Psoriasis and risk of atrial fibrillation and ischaemic stroke: a Danish nationwide cohort study. *Eur. Heart J.* 2012; 33 (16):2054-2064. doi:10.1093/eurheartj/ ehr285
26. Stern R.S., Huibregtse A. Very severe psoriasis associated with increased noncardiovascular mortality but not with increased cardiovascular risk. *J. Invest. Dermatol.* 2011; 131 (5):1159-1166. doi:10.1038/jid.2010.399
27. Armstrong E.J., Harskamp C.T., Armstrong A.W. Psoriasis and major adverse cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J. Am. Heart. Assoc.* 2013; 2 (2): e000062. doi:10.1161/JAHA.113.000062
28. Singh S., Taylor C., Kornmehl H., Armstrong A.W. Psoriasis and suicidality: a systematic review and meta-analysis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2017; 77 (3): 425-440.e2. doi:10.1016/j.jaad.2017.05.019
29. Dowlatshahi E.A., Wakkee M., Arends L.R., Nijsten T. The prevalence and odds of depressive symptoms and clinical depression in psoriasis patients: a systematic review and meta-analysis. *J. Invest. Dermatol.* 2014; 134 (6): 1542-1551. doi:10.1038/jid.2013.508
30. Dalgard F.J., Gieler U., Tomas-Aragones L., et al. The psychological burden of skin diseases: a cross-sectional multicenter study among dermatological out-patients in 13 European countries. *J. Invest. Dermatol.* 2015; 135 (4): 984-991. doi:10.1038/jid.2014.530
31. Eppinga H., Poortinga S., Thio H.B., et al. Prevalence and phenotype of concurrent psoriasis and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2017; 23 (10):1783-1789. doi:10.1097/MIB.0000000000001169
32. Karason A., Gudjonsson J.E., Upmanyu R., et al. A susceptibility gene for psoriatic arthritis maps to chromosome 16q: evidence for imprinting. *Am. J. Hum Genet.* 2003; 72 (1):125-131. doi:10.1086/345646
33. Боткина А.С., Короткий Н.Г., Короткий В.Н. Таргетная терапия псориатической болезни. Клиническая дерматология и венерология. 2018; 17 (4):18-29. [Botkina A.S., Korotkii N.G., Korotkii V.N. Targeted therapy of psoriatic disease. *Clinical dermatology and venereology.* 2018;17 (4):18-29 (In Russ)]. doi.org/10.17116/klinderma20181704118
34. Матушевская Е.В., Коновалова М.В., Владимиров Е.В., Свиричевская Е.В. Патогенез и терапия псориаза и псориатического артрита. Клиническая дерматология и венерология. 2019;18(5):626-634. [Matushevskaja E.V., Konovalova M.V., Vladimirova E.V., Svirshchevskaja E.V. Pathogenesis and therapy of psoriasis and psoriatic arthritis. *Clinical dermatology and venereology.* 2019; 18 (5): 634-643 (In Russ)]. doi.org/10.17116/klinderma201918051634
35. Меркушова Е.Д., Хасанова Е.М., Ганковская Л.В. Механизмы врожденного иммунитета в патогенезе псориаза: подходы к таргетной терапии. Медицинская иммунология. 2020; 22 (3): 449-458. [Merkushova E.D., Khasanova E.M., Gankovskaya L.V. Mechanisms of innate immunity in pathogenesis of psoriasis: approaches to targeted therapy. *Medical Immunology.* 2020; 22 (3): 449-458. (In Russ)]. https://doi.org/10.15789/1563-0625-MOI-1949
36. Vičić M., Kaštelan M., Brajac I., et al. Current concepts of psoriasis immunopathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22 (21): 11574. doi: 10.3390/ijms222111574
37. Armstrong A.W., Read C. Pathophysiology, clinical presentation, and treatment of psoriasis: a review. *JAMA.* 2020; 323 (19): 1945-1960. doi: 10.1001/jama.2020.4006
38. Chiricozzi A., Romanelli P., Volpe E., et al. Scanning the immunopathogenesis of psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19 (1): 179. doi: 10.3390/ijms19010179
39. Schön M.P. Adaptive and innate immunity in psoriasis and other inflammatory disorders. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1764. doi: 10.3389/fimmu.2019.01764
40. Hijnen D., Knol E.F., Gent Y.Y., et al. CD8(+) T cells in the lesional skin of atopic dermatitis and psoriasis patients are an important source of IFN-g, IL-13, IL-17, and IL-22. *J. Investig. Dermatol.* 2013, 133, 973-979. doi.org/10.1038/jid.2012.456
41. Di Meglio P., Villanova F., Navarini A.A., et al. Targeting CD8(+) T cells prevents psoriasis development. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016, 138, 274-276. doi.org/10.1016/j.jaci.2015.10.046
42. Ortega C., Fernández A.S., Carrillo J.M., et al. IL-17-producing CD8+ T lymphocytes from psoriasis skin plaques are cytotoxic effector cells that secrete Th17-related cytokines. *J. Leukoc. Biol.* 2009, 86, 435-443. doi.org/10.1189/JLB.0109046
43. Lowes M.A., Kikuchi T., Fuentes-Duculan J., et al. Psoriasis vulgaris lesions contain discrete populations of Th1 and Th17 T cells. *J. Investig. Dermatol.* 2008, 128, 1207-1211. doi.org/10.1038/sj.jid.5701213
44. Колерова А.В., Микаилова Д.А., Бейманова М.А., Блинова Е.А. Характеристика CD4+ центральных и эффекторных клеток памяти при псориазе. Медицинская иммунология. 2021; 23 (4): 969-974. [Kolerova A.V., Mikailova D.A., Beimanova M.A., Blinova E.A. Characterization of central and effector CD4+ memory cells in psoriasis. *Medical Immunology.* 2021; 23 (4): 969-974 (In Russ)]. doi.org/10.15789/1563-0625-COC-2288

45. *Абдулганиева Д.И., Бакулев А.Л., Белоусова Е.А. и др.* Проект междисциплинарных рекомендаций по диагностике, методам оценки степени активности воспалительного процесса, терапевтической эффективности и применению генно-инженерных биологических препаратов у пациентов с сочетанными иммуновоспалительными заболеваниями (псориаз, псориатический артрит, болезнь Крона). Альманах клинической медицины. 2018; 46 (5): 426-44. [Abdulganieva D.I., Bakulev A.L., Belousova E.A., et al. A draft of the interdisciplinary guidelines for diagnosis, methods for assessment of the degree of inflammatory activity, therapeutic efficacy, and for the use of biological agents in patients with concomitant immunoinflammatory diseases (psoriasis, psoriatic arthritis, Crohn's disease). Almanac of Clinical Medicine. 2018; 46 (5): 426-44 (In Russ)]. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-5-426-444.

Поступила в редакцию журнала 24.12.2021

Рецензент: В.Г. Корнишева

АСПЕРГИЛЛЕЗНЫЙ ТРАХЕОБРОНХИТ У БОЛЬНЫХ COVID-19: ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

¹Шагдилеева Е.В. (доцент)*, ¹Шадринова О.В. (доцент), ¹Десятник Е.А. (врач-аллерголог), ¹Кулакова С.М. (ординатор), ²Пальчикова Л.С. (и.о. зав. отделением), ²Стекольников А.А. (зав. отделением), ³Азанчевская С.В. (зав. отделением), ¹Митрофанов В.С. (зав. отделением), ¹Борзова Ю.В. (зав. клиникой), ¹Шурпицкая О.А. (зав. лаб.), ¹Игнатьева С.М. (в.н.с.), ¹Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; ²Городская больница Святого Великомученика Георгия; ³Городское патологоанатомическое бюро, Санкт-Петербург, Россия

Представлено первое в России описание клинического случая аспергиллезного трахеобронхита у больного тяжелой COVID-19. При видеобронхоскопии обнаружили эрозию третьего сегмента правого бронха RB3. При гистологическом исследовании биоптата в стенке бронха выявили мицелий *Aspergillus spp.* Пациент получал антимикотическую терапию вориконазолом, выписан в удовлетворительном состоянии.

У больных COVID-19, кроме инвазивного аспергиллеза легких, возможно развитие аспергиллезного трахеобронхита. При выявлении на видеобронхоскопии или фибробронхоскопии эрозий в трахеи и бронхах для исключения аспергиллезного трахеобронхита необходимо обследование: биопсия бронха с гистологическим и микологическим исследованием биоптата.

Ключевые слова: аспергиллезный трахеобронхит, COVID-ассоциированный инвазивный аспергиллез, *Aspergillus spp.*, COVID-19, коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2

ASPERGILLOSIS TRACHEOBRONCHITIS IN PATIENTS WITH COVID-19: CLINICAL CASE DESCRIPTION AND LITERATURE REVIEW

¹Shagdileeva E.V. (associate professor), ¹Shadrivova O.V. (associate professor), ¹Desyatnik E.A. (allergologist), ¹Kulakova S.M. (resident), ²Palchikova L.S. (acting head of the clinical department), ²Stekolnikov A.A. (head of the clinical department), ³Azanchevskaya S.V.

* Контактное лицо: Шагдилеева Елена Владимировна, e-mail: Elena.Shagdileeva@szgmu.ru

(head of the pathology department), ¹Mitrofanov V.S. (head of the clinical department), ¹Borzova Yu.V. (head of the clinic), ¹Shurpitskaya O.A. (head of the laboratory), ¹Ignatyeva S.M. (leading scientific researcher), ¹Klimko N.N. (head of the department)

¹North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; ²City Hospital of St. George; ³City Pathology Bureau, St. Petersburg, Russia

*For the first time in Russia, a clinical case of aspergillosis tracheobronchitis in a patient with severe COVID-19 was presented. On videobronchoscopy an erosion of the third segment of the right bronchus RB3 was revealed. Histological examination of the biopsy in the bronchial wall revealed mycelium *Aspergillus spp.* A patient received antimycotic therapy (voriconazole) and was discharged in a satisfactory condition.*

In addition to invasive pulmonary aspergillosis, aspergillosis tracheobronchitis can develop in patients with COVID-19. If erosions in the trachea and bronchi are detected on videobronchoscopy, the patient must be examined for aspergillosis tracheobronchitis: bronchial biopsy with histological and mycological examination of the biopsy.

Key words: aspergillosis tracheobronchitis, COVID-associated invasive aspergillosis, *Aspergillus spp.*, COVID-19, coronavirus infection, SARS-CoV-2

Инвазивный аспергиллез (ИА) легких – серьезное осложнение у пациентов с тяжелой COVID-19 [1]. Согласно данным многоцентрового исследования ЕСММ (European Confederation of Medical Mycology), частота COVID-ассоциированного инвазивного аспергиллеза (COVID-ИА) в специализированных инфекционных стационарах составляет от 1,7% до 26,8% (медиана – 10,7%) [2]. Аспергиллезный трахеобронхит (АТ) – редкое клиническое проявление ИА у пациентов с тяжелой вирусной пневмонией [3, 4], которое характеризуется высокой летальностью [3]. Количество публикаций об АТ при COVID-19 ограничено. Мы представляем первое в России описание клинического случая аспергиллезного трахеобронхита у больного тяжелой COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для постановки диагноза использовали клинические и лабораторные критерии ЕСММ/ISHAM, 2020 (European Confederation of Medical Mycology/International Society for Human and Animal Mycology) [1]. Также провели анализ данных из научной литературы в базе PubMed, ClinicalKey и eLibrary (декабрь 2021 г.). Поиск информации осуществляли с использованием следующих ключевых слов: аспергиллезный трахеобронхит, COVID-ассоциированный

инвазивный аспергиллез, *Aspergillus* spp., CAPA (COVID-19 Associated Pulmonary Aspergillosis), COVID-19, коронавирусная инфекция, SARS-CoV-2.

Клинический случай

Пациент Б., 59 лет, поступил в микологическую клинику 18.10.21 г. с жалобами на одышку при физической нагрузке, малопродуктивный кашель.

При объективном осмотре общее состояние удовлетворительное. Кожные покровы сухие, обычной окраски. Лимфатические узлы не увеличены. Дыхание самостоятельное. Над областью легких дыхание жесткое, проводится во все отделы, хрипов нет, частота дыхательных движений – 16 в минуту. Сатурация – 94%. При аускультации сердца тоны приглушенные, неритмичные, хаотичные. Частота сердечных сокращений (ЧСС) – 65 в минуту. Артериальное давление (АД) – 120/80 мм рт. ст. Живот при пальпации мягкий, безболезненный, перистальтические шумы отсутствуют. Печень и селезенка не увеличены, отеков нет. Физиологические отправления в норме.

Анамнез заболевания: считает себя больным с 03.07.21 г., когда отметил повышение температуры до субфебрильных цифр. В этот же день выполнили исследование мазков из зева и носа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на РНК SARS-CoV-2 – результат положительный.

Получал симптоматическую и антибактериальную (левофлоксацин) терапию. Состояние ухудшалось (температура повысилась до 38,5 °С, narosла одышка), в связи с чем 12.07.21 г. пациент был госпитализирован в инфекционное отделение городской больницы Святого Великомученика Георгия.

Установлен диагноз: новая коронавирусная инфекция COVID-19 (ПЦР «+» от 03.07.21 г.), тяжелое течение.

Осложнение: двусторонняя полисегментарная деструктивная пневмония.

Сопутствующие заболевания: Ишемическая болезнь сердца (ИБС), пароксизмальная форма фибрилляции предсердий, тахисистолия. Гипертоническая болезнь 2 ст. Артериальная гипертензия 2 ст. Риск сердечно-сосудистых осложнений 4. Хроническая обструктивная болезнь легких вне обострения. Стеатоз печени. Ворсинчатая аденома прямой кишки, эндоскопическая операция от 27.04.21 г. Варикозная болезнь вен нижних конечностей. Посттромбофлебитическая болезнь. Ожирение 2 степени. Диффузный зоб, клинический эутиреоз. TI-RADS-2.

В клиническом анализе крови выявили лейкоцитоз ($15,17 \times 10^9/\text{л}$) с нейтрофилезом ($12,44 \times 10^9/\text{л}$) и выраженную лимфоцитопению ($0,54 \times 10^9/\text{л}$).

На компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки (ОГК) от 12.07.21: в обоих легких на фоне участков парасептальной эмфиземы прослежи-

вались фокусы и зоны уплотнения по типу «матового стекла» с ретикулярными изменениями и участками консолидации в структуре. Объем вовлечения легочной паренхимы в патологический процесс – 40%. Эмфизема легких. КТ-2. (Рис.1).



Рис.1. КТ ОГК от 12.07.21 г. Уплотнения по типу «матового стекла».

Получал лечение: системные глюкокортикостероиды (ГКС) (с 12.07.21 г. – дексаметазон 20 мг/сут. по схеме с постепенным снижением на 4 мг/сут. каждые 4 дня, полная отмена 29.07.21 г.), антибактериальную (имепенем, тигециклин, полимиксин В, фосфомицин, цефтазидим, азтреонам), антикоагулянтную (фраксипарин, ривароксабан), муколитическую (ацетилцистеин), инфузионную и дезинтоксикационную терапии, спиронолактон, дигоксин, а также инсуффляцию увлажненным кислородом.

Через две недели на КТ ОГК отмечена отрицательная динамика: в субплевральных и перибронховаскулярных отделах выявили новые участки уплотнения по типу «матового стекла», появились мелкие солидные очаги по типу «деревя в почках» в обоих легких, в структуре солидных очагов наблюдали мелкие полости размерами до 2 мм в S4 левого легкого и в S10 правого легкого. Объем вовлечения легочной паренхимы в патологический процесс – 56%.

Выполнили видеобронхоскопию (ВБС): трахеобронхиальная дискинезия 1 степени, катаральный

эндобронхит, эрозия третьего сегмента бронха справа RV3 (Рис. 2).

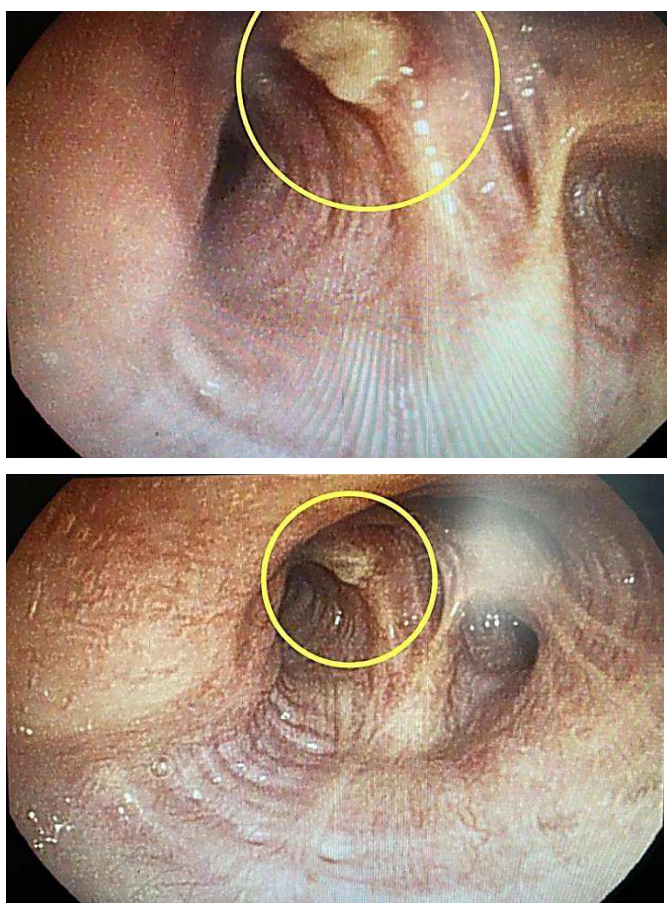
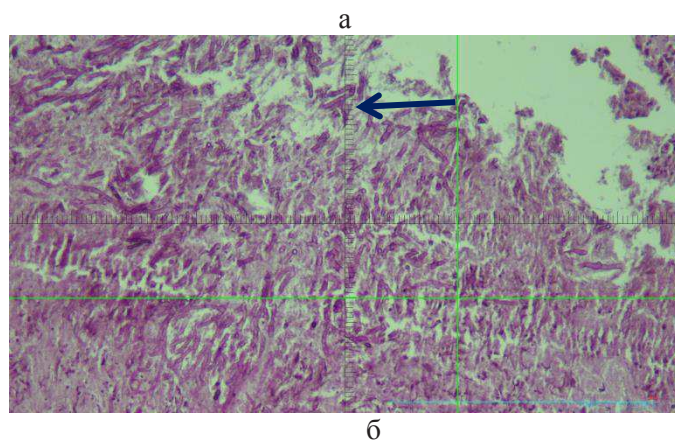
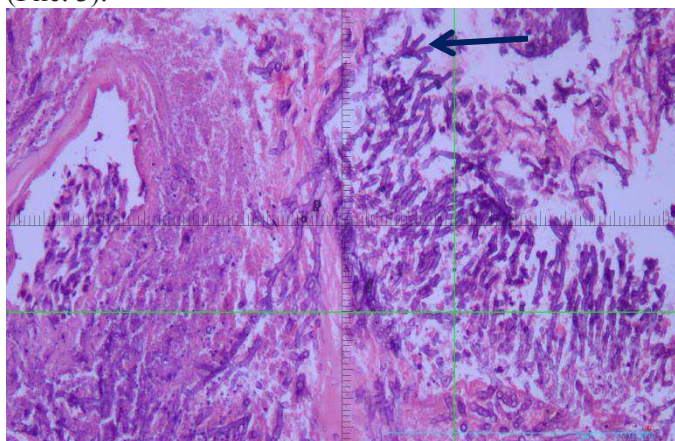


Рис.2. ВБС: аспергиллезный трахеобронхит.

Гистологическое исследование биоптата бронхов: очаговая эпидермизация эпителия бронха, реактивная гиперплазия и диффузная смешанная клеточная воспалительная инфильтрация вновь образованного многослойного плоского эпителия с четкой базальной мембраной, без атипии. Субэпителиально в стенке бронха на фоне диффузного гнойного воспаления с абсцедированием выявили большое количество гиф грибов, сходных с аспергиллами. Заключение: аспергиллез третьего сегмента бронха справа (Рис. 3).



б

Рис. 3. Гистологическая картина аспергиллезного трахеобронхита: септированный мицелий, ветвящийся под острым углом (стрелки). а – окраска гематоксилином эозином (Г-Э), увеличение $\times 200$, б – окраска ПАС (ШИК), увеличение $\times 400$.

На КТ ОГК в динамике от 05.08.21г. обнаружили новые мелкие солидные очаги по типу «деревя в почках» в обоих легких, полость верхней доли левого легкого увеличилась в объеме, размерами 26х36 мм – симптом «серпа». Процент поражения – 60%, тяжелая КТ-3 (Рис. 4).

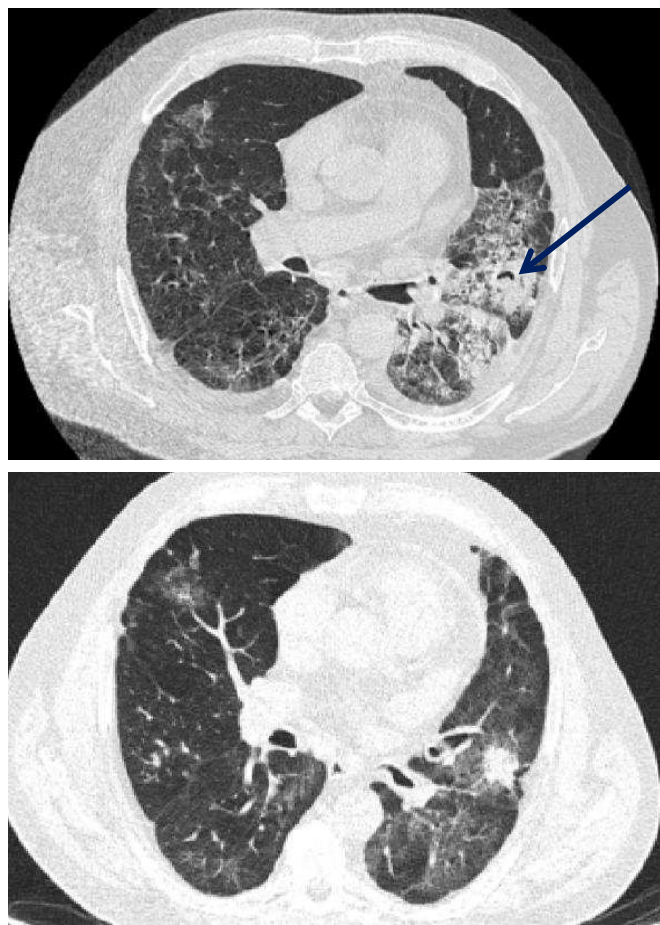


Рис. 4. КТ ОГК от 05.08.21 г. очаговое поражение легких, симптом «серпа» (стрелка).

В клиническом анализе крови от 07.08.21 г.: лейкоцитов – $8,8 \times 10^9/\text{л}$, но сохранялись нейтрофилез ($6,56 \times 10^9/\text{л}$) и выраженная лимфоцитопения ($0,50 \times 10^9/\text{л}$).

С учетом наличия факторов риска развития инвазивного аспергиллеза (длительной клинически зависимой лимфоцитопении – 27 дней и применение системных ГКС) и на основании данных ВБС (эрозии бронха третьего сегмента справа), характерных КТ-признаков (наличие зон уплотнения по типу «матового стекла», симптомов «серпа» и «дерева в почках»), а также появление мелких полостей) и результатов гистологического исследования (выявления мицелия микроциста *Aspergillus* spp.) 10.08.21 г. установлен диагноз «аспергиллезный трахеобронхит, инвазивный аспергиллез легких».

Пациент получал антимикотическую терапию вориконазолом 6 мг/кг в сутки, затем 4 мг/кг в сутки.

Через две недели на фоне проводимого лечения отмечали положительную клиническую и лабораторную динамику. На КТ ОГК: ранее выявленные участки инфильтрации частично регрессировали, протяженность инфильтративных изменений в обоих легких уменьшилась, полости деструкции не визуализировались.

24.08.21 г. больной был выписан в удовлетворительном состоянии. Амбулаторно продолжил антимикотическую терапию вориконазолом 400 мг/сутки.

На контрольной КТ ОГК от 11.09.21 г. сохранялись зоны уплотнения по типу «матового стекла» на фоне субсегментарных ателектазов и фиброзных изменений, с обеих сторон локальные плеврокостальные и плевромедиастинальные фиброзные спайки, пневматизация легочной паренхимы неравномерная за счет участков панлобулярной, центрлобулярной и парасептальной эмфиземы. КТ-3.

Антимикотическая терапия вориконазолом продолжена. С 17.10.21 г. самостоятельно поменял лечение на итраконазол в дозировке 400 мг/сут.

Пациент был направлен пульмонологом по месту жительства в микологическую клинику для обследования и решения вопроса о дальнейшей тактике ведения.

При поступлении в микологическую клинику в клиническом анализе крови: лейкоциты – $6,9 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофилы – $4,4 \times 10^9/\text{л}$, лимфоциты – $1,8 \times 10^9/\text{л}$; в биохимическом анализе крови: повышение уровней глюкозы – 5,6 ммоль/л и мочевины – 5,9 ммоль/л.

Мазок из зева и носа методом ПЦР на РНК SARS-CoV-2 от 16.10.21 г. – отрицательный.

Выполнена фибробронхоскопия (ФБС): слизистая оболочка трахеи и бронхов обоих легких гладкая, блестящая, розовая, сосудистый рисунок не усилен. Фиброз в проекции шпоры правого бронха третьего порядка. Просветы не изменены, проходимы до субсегментарного уровня. В просветах умеренное

количество слизистого секрета. Заключение: катаральный диффузный эндобронхит 1 ст.; признаки хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ); дискинезия бронхов 1 ст.

Выполнили исследование бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ): тест на галактоманнан (ГМ) – отрицательный (ИОП=0,13), при микроскопии и посевах – микробиоты не обнаружено.

На КТ ОГК от 19.10.21 г. отчетливая положительная динамика: снижение интенсивности участков «матового стекла», уменьшение размеров зон консолидации. Заключение: последствия перенесенной COVID-19 ассоциированной пневмонии в стадии формирования пневмофиброза.

По результатам обследования убедительных клинических, лабораторных и инструментальных признаков активности АТ и ИА не выявили. Антимикотическая терапия отменена.

Пациент выписан в удовлетворительном состоянии.

Общая длительность антимикотической терапии составила 101 день.

ОБСУЖДЕНИЕ И ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В результате литературного поиска мы не обнаружили публикаций, посвященных описанию случаев COVID-АТ, однако в посвященных COVID-ИА публикациях есть упоминание о развитии COVID-АТ у данной когорты пациентов [5-7].

Репликация вируса COVID-19 приводит к эрозированию эпителия дыхательных путей, нарушению мукоцилиарного клиренса и иммунной дисфункции с нарушением регуляции иммунного ответа, повышая тем самым восприимчивость к бактериальным и грибковым инфекциям [8-9]. Прямое повреждение эпителия из-за репликации вируса может быть важным фактором, предрасполагающим к инвазии *Aspergillus* spp. в ткани [1]. АТ возникает преимущественно у пациентов с тяжелой хронической обструктивной болезнью легких, у реципиентов трансплантации легких, а также при тяжелом гриппе [10]. По результатам трех исследований, посвященных COVID-ИА, в Италии и Бельгии частота АТ при COVID-ИА составляла 10% и 20% соответственно [5-6], а в России – 7% [7].

Клинические признаки COVID-ИА неспецифичны: рефрактерная к антибиотикам широкого спектра действия лихорадка и нарастающая дыхательная недостаточность [1]. Мы также не выявили специфических клинических проявлений АТ.

В соответствии с опубликованными международными рекомендациями [1], при подозрении вторичной инфекции больным COVID-19 показана ФБС, что позволяет проводить прямой осмотр трахеи и бронхов для выявления COVID-АТ. На наличие COVID-АТ указывают обнаруженные при ФБС

трахеобронхиальные язвы, узелки, псевдомембраны, бляшки или струп. Диагноз «доказанного» COVID-АТ устанавливают при обнаружении гифов гриба при прямой микроскопии в гистологическом препарате, что указывает на инвазивный рост с сопутствующим повреждением тканей; «вероятного» COVID-АТ – при выявлении мицелия при прямой микроскопии БАЛ и/или обнаружении *Aspergillus* spp. в БАЛ, и/или «+» ПЦР *Aspergillus*, и/или ГМ в сыворотке крови > 0,5, и/или ГМ в БАЛ $\geq 1,0$.

У нашего пациента при проведении ВБС выявили эрозию третьего сегмента слева, а при гистологическом исследовании биоптата бронхов обнаружили большое количество гиф грибов, сходных с аспергиллами. По результатам проведенного обследования установили диагноз «доказанный» COVID-АТ.

Препараты выбора для лечения COVID-ИА – вориконазол или изавуконазол. Альтернативные препараты (липосомальный амфотерицин В, липидный комплекс амфотерицина В и каспофунгин) применяют при невозможности использования вориконазола и изавуконазола или при неэффективности стартовой терапии [2]. При COVID-АТ в дополнение к стандартному медикаментозному лечению также рекомендуют введение противогрибковых средств с помощью небулайзера [11]. В настоящее время так

обычно используют липосомальный амфотерицин В, проводят исследование новых препаратов из группы триазолов для ингаляционного применения [12]. В описанном нами случае больной получал вориконазол, ингаляционные антимикотики не применяли. При этом потребовалось длительное противогрибковое лечение.

В настоящее время выживаемость пациентов с COVID-АТ не изучена. У больных тяжелым гриппом было установлено, что выживаемость больных ИА без АТ была значительно выше по сравнению с пациентами с АТ (90% против 44%; $P=0,02$) [3].

Необходимо дальнейшее изучение АТ у больных COVID-19.

ВЫВОДЫ

У пациентов с COVID-19 возможно развитие аспергиллезного трахеобронхита. Бронхоскопия с биопсией и исследование БАЛ – обязательные методы диагностики инвазивного аспергиллеза легких, в том числе аспергиллезного трахеобронхита. При выявлении эрозий трахеи и/или бронхов для исключения аспергиллезного трахеобронхита необходимо проведение биопсии бронха с гистологическим исследованием биоптата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Koehler P., Bassetti M., Chakrabarti A., et al. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: The 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 21: e149-e162. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30847-1
2. Prattes J., Wauters J., Giacobbe D.R., et al. Risk factors and outcome of pulmonary aspergillosis in critically ill coronavirus disease 2019 patients – a multinational observational study by the European Confederation of Medical Mycology. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021; 27: 2892. doi: 10.1016/j.cmi.2021.08.014
3. Nyga R., Maizel J., Nseir S. Invasive tracheobronchial aspergillosis in critically ill patients with severe influenza. A clinical trial. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2020; 202: 708-716. doi: 10.1164/rccm.201910-1931OC
4. Мелёхина Ю.Э., Шадривова О.В., Фролова Е.В. и др. Тяжелый грипп как фактор риска развития инвазивного аспергиллеза лёгких (клинический случай). *Журнал инфектологии.* 2020; 12 (1): 96-103. [Melekhina Yu.E., Shadrivova O.V., Frolova E.V. et al. Invasive pulmonary aspergillosis as a complication of severe influenza (case report). *Journal Infectology.* 2020; 12 (1): 96-103 (In Russ)]. doi.org/10.22625/2072-6732-2020-12-1-96-103
5. Bartoletti M., Pascale R., Cricca M. Epidemiology of invasive pulmonary aspergillosis among COVID-19 intubated patients: a prospective study. *Clin Infect Dis.* 2020 doi: 10.1093/cid/ciaa1065
6. Rutsaert L., Steinfort N., Van Hunsel T. COVID-19-associated invasive pulmonary aspergillosis. *Ann Intensive Care.* 2020; 10: 71. doi: 10.1186/s13613-020-00686-4
7. Shadrivova O., Gusev D., Vashukova M., et al. COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in Russia. *J. Fungi (Basel).* 2021; 7 (12): 1059. doi: 10.3390/jof7121059
8. Климко Н.Н., Шадривова О.В. Инвазивный аспергиллез при тяжелых респираторных вирусных инфекциях (гриппе и COVID-19). *Журнал инфектологии.* 2021; 13 (4): 14-32 [Klimko N.N., Shadrivova O.V. Invasive aspergillosis a complication severe respiratory viral infections (influenza and COVID-19). *Journal Infectology.* 2021; 13 (4): 14-24 (In Russ)]. doi.org/10.22625/2072-6732-2021-13-4-14-24
9. Arastehfar A., Carvalho A., van de Veerdonk F.L., et al. COVID-19 associated pulmonary aspergillosis (CAPA) – from immunology to treatment. *J. Fungi.* 2020; 6 (2): 91. doi: 10.3390/jof6020091
10. Krenke R., Grabczak E.M. Tracheobronchial manifestations of *Aspergillus* infections. *Sci. World J.* 2011; 11: 2310-2329. doi: 10.1100/2011/865239
11. Patterson T., Thompson G., Denning D., et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63: e1-e60. doi: 10.1093/cid/ciw326

12. Colley T., Sharma C., Alanio A., et al. Anti-fungal activity of a novel triazole, PC1244, against emerging azole-resistant *Aspergillus fumigatus* and other species of *Aspergillus*. J. Antimicrob. Chemother. 2019; 74: 2950-2958. doi: 10.1093/jac/dkz302

Поступила в редакцию журнала 25.01.2022

Рецензент: М.А. Шевяков

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЫ

Бурыгина Е.В. (аспирант)*, Козлова Я.И. (доцент), Мельникова А.В. (студент), Аак О.В. (в.н.с.), Разнатовский К.И. (зав. кафедрой), Климко Н.Н. (зав. кафедрой)

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

Хроническая спонтанная крапивница (ХСК) является серьезной медико-социальной проблемой, поражает преимущественно лиц трудоспособного возраста, значительно снижает качество жизни и характеризуется высоким уровнем прямых и непрямых затрат на лечение. Поиск новых клиническо-лабораторных маркеров тяжелого течения ХСК, способных определить прогноз заболевания и предсказать ответ на терапию, – актуальное направление современной персонифицированной медицины.

В исследование включили 125 пациентов в возрасте от 18 до 75 лет с ХСК, среди которых преобладали женщины (73%). У большей части больных ХСК (69%) регистрировали ангиоотеки различной локализации, у 47% – выявили сочетание с хронической индуцированной крапивницей (ХИК). Согласно результатам опросника UAS7, у 33% пациентов с ХСК установили тяжелое течение крапивницы, которое было ассоциировано с отсутствием контроля заболевания (по данным опросника Urticarial Control Test), низким качеством жизни (по данным опросника Dermatology Life Quality Index), низким уровнем эозинофилов в периферической крови, а также дисфункцией щитовидной железы (гипотиреоз, повышение титра антител к тиреоидной пероксидазе).

Ключевые слова: хроническая спонтанная крапивница, тяжесть течения, UAS7, UCT, DLQI, эозинофилы

CLINICAL AND LABORATORY MARKERS OF SEVERE CHRONIC SPONTANEOUS URTICARIA

Burygina E.V. (postgraduate student), Kozlova Y.I. (associate professor), Melnikova A.V. (student), Aak O.V. (leading scientific researcher), Raznatovskiy K.I. (head of the department), Klimko N.N. (head of the department)

* Контактное лицо: Бурыгина Екатерина Васильевна, e-mail: Ekaterina.Burygina@szgmu.ru

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

Chronic spontaneous urticaria (CSU) is a serious medical and social problem, mainly affects people of working age, significantly reduces the quality of life and characterized by a high level of direct and indirect treatment costs. An urgent area of modern personalized medicine is the search for new clinical and laboratory markers of the severe course of CSU that can determine the prognosis of the disease and predict the response to therapy.

The study included 125 patients with CSU from 18 to 75 years old, mainly women (73%). In the majority of patients with CSU (69%) were recorded angioedema of various localization, and 47% of patients had a combination CSU and chronic induced urticaria (CIU). According to the results of the UAS7, 33% of patients with CSU had severe urticaria, which was associated with a lack of disease control (according to the Urticarial Control Test), a low quality of life (according to the Dermatology Life Quality Index), a low level of eosinophils in peripheral blood, as well as thyroid dysfunction (hypothyroidism, increased level of antibodies to thyroid peroxidase).

Key words: chronic spontaneous urticaria, disease severity, UAS7, UCT, DLQI, eosinophils

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая спонтанная крапивница (ХСК) – заболевание, связанное с дегрануляцией тучных клеток и появлением волдырей, зуда и/или ангиоотеков (АО) в течение более 6 недель при отсутствии специфических триггеров [1, 2]. ХСК поражает до 1% населения в общей популяции по всему миру [3]. Известно, что у 20% пациентов клинические проявления крапивницы сохраняются более 5 лет [4].

Несмотря на то, что ХСК не относят к инвалидизирующим заболеваниям, тяжелое течение крапивницы оказывает значимое влияние на трудоспособность, сон и психоэмоциональное состояние пациентов [5]. Высокая активность ХСК часто диктует необходимость перехода на более высокие ступени терапии, а также назначение системных глюкокортикостероидов (ГКС) [1, 2].

Оценка активности и контроля ХСК является непростой задачей в связи с наличием субъективных и объективных параметров. Для клинической практики международные и отечественные согласительные документы рекомендуют использовать индекс активности крапивницы (Urticaria Activity Score 7 – UAS7) и тест контроля крапивницы (Urticarial Control Test) [1, 2, 5]. Результаты данных опросников отражают следующие параметры: количество уртикарных элементов, интенсивность зуда, а также контроль заболевания на фоне терапии, которые пациент оценивает самостоятельно. Также большой интерес при обследовании больных ХСК представ-

ляют объективные клинические и лабораторные данные. Такие характеристики, как продолжительность заболевания, наличие ангиоотечков, сопутствующие коморбидные состояния, могут быть прогностическими маркерами течения крапивницы. Кроме того, по мнению современных ученых, некоторые лабораторные показатели могут указывать на тяжелое течение заболевания и быть использованы для определения стратегии лечения.

Таким образом, комплексное изучение клинико-лабораторных маркеров тяжести ХСК позволит составить прогноз течения заболевания, оптимизировать ведение больных, своевременно начать адекватную терапию и повысить её эффективность.

Цель работы: оценить клинико-лабораторные характеристики пациентов с ХСК в зависимости от тяжести течения заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации, в период с 2018 по 2021 гг. проведено открытое проспективное когортное исследование, в которое включили 125 пациентов с ХСК. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, г. Санкт-Петербург (протокол №10 от 30.10.2019 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие и использование полученных медицинских данных.

Критерии включения в исследование:

- возраст 18 лет и старше;
- спонтанное появление уртикарных высыпаний и/или ангиоотечков на протяжении не менее 6 недель;
- подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследования:

- длительность течения крапивницы менее 6 недель;
- возраст менее 18 лет;
- изолированная форма индуцируемой хронической крапивницы;
- уртикарный васкулит;
- крапивница, впервые возникшая после перенесенной коронавирусной инфекции SARS-Cov2;
- беременность и лактация;
- отказ пациента от участия в исследовании.

У всех больных анализировали данные анамнеза и результаты объективного осмотра. Учитывали возраст дебюта, продолжительность крапивницы, наличие ангиоотечков, сочетание с хронической индуцированной крапивницей (ХИК), а также сопутствующую патологию щитовидной железы. Показатели клинического анализа крови оценивали с использованием автоматического гемоанализатора. Уровень

общего иммуноглобулина Е (IgE) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа («Полигност» Россия).

Активность и тяжесть течения крапивницы изучали индекса с помощью недельной активности крапивницы (UAS7), оценивали сумму баллов, которые отражают ежедневное количество волдырей и интенсивность зуда в течение семи дней. Характеристика волдырей: 0 баллов – нет волдырей; 1 балл – менее 20 волдырей; 2 балла – 20-50 волдырей; 3 балла – более 50 волдырей. Характеристика зуда: 0 баллов – зуд отсутствует; 1 балл – зуд есть, но не беспокоит; 2 балла – зуд беспокоит, но не мешает активности; 3 балла – зуд мешает дневной активности и сну.

Учитывали терапию и ответ на лечение за 4 предшествующие недели при помощи валидированного опросника UCT (Urticarial Control Test), в котором было необходимо ответить на 4 вопроса: контроль симптомов болезни, влияние на качество жизни, эффективность терапии, общий контроль заболевания. Каждый ответ на вопрос оценивали в баллах от 0 до 4. Максимальная сумма баллов при ответах на вопросы (16) демонстрировала полный контроль заболевания, количество баллов ≤ 11 указывало на неконтролируемое течение ХСК [1, 2].

Качество жизни оценивали с помощью валидированного опросника DLQI (Dermatology Life Quality Index), состоящего из 10 вопросов с 4 вариантами ответов и отражающего степень влияния (очень сильно, сильно, не сильно, нет воздействия). Индекс рассчитывали путем суммирования баллов по каждому вопросу. Результат мог варьировать от 0 до 30 баллов. Максимальное значение индекса – 30. Оценка значений индекса: 0-1 – заболевание не влияет на жизнь пациента; 2-5 – заболевание оказывает незначительное влияние на жизнь пациента; 6-10 – заболевание оказывает умеренное влияние на жизнь пациента; 11-20 – заболевание оказывает очень сильное влияние на жизнь пациента; 21-30 – заболевание оказывает чрезвычайно сильное влияние на жизнь пациента [6].

Статистический анализ проводили с использованием программ STATISTICA for Windows (версия 10) и StatTech (версия 2.5.2). Данные представляли в виде медианы (Me) нижнего и верхнего квартилей (Q1; Q3). Для оценки различий между независимыми выборками применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполняли с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10), точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10). Корреляционный анализ показателей осуществляли методом Спирмана. Значимыми

различиями сравниваемых параметров считали $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обследованы 125 пациентов в возрасте от 18 до 75 лет с ХСК; медиана возраста составила 42 [30 ; 57] года, женщин – 91 (72,8%), мужчин – 34 (27,2%). Отметим, что преобладание женщин среди пациентов с ХСК также продемонстрировано в современных эпидемиологических исследованиях. Ряд авторов рассматривает женский пол в качестве неблагоприятного прогностического фактора длительного течения заболевания и выраженного снижения качества жизни [7, 8].

В ходе ретроспективного анализа данных анамнеза выявили, что дебют уртикарных высыпаний пациенты отмечали в разном возрасте, часто без какого-либо значимого триггера. Медиана возраста начала заболевания – 37 лет. Продолжительность клинических проявлений (уртикарных высыпаний, зуда, ангиоотеков) варьировала от 3 месяцев до 30 лет, средняя продолжительность заболевания составила 3,7 лет. Клиническая характеристика пациентов с ХСК представлена в таблице 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов с ХСК, n=125

| Показатель | Абс. | % |
|------------------------------------------------|-----------------|------|
| Возраст, годы Ме (Q1; Q3) | 42 (30; 57) | |
| Пол (женщины) | 91 | 72,8 |
| Отягощенная наследственность по атопии | 34 | 27,2 |
| Возраст дебюта крапивницы, годы Ме (Q1;Q3) | 37 (28; 51) лет | |
| Продолжительность крапивницы, годы Ме (Q1; Q3) | 1,6 (0,6; 5,0) | |
| Ангиоотеки | 86 | 68,8 |
| Хроническая индуцированная крапивница | 59 | 47,2 |
| Крапивница от давления | 45 | 36,0 |
| Солнечная крапивница | 9 | 7,2 |
| Холинергическая крапивница | 9 | 7,2 |
| Холодовая крапивница | 7 | 5,6 |
| Дермографическая крапивница | 4 | 3,2 |
| Аквагенная крапивница | 2 | 1,6 |

Обращает внимание, что у большей части пациентов с ХСК (68,8%) регистрировали ангиоотеки различной локализации. Полученные данные согласуются с результатами исследования Sussman G. и соавторов, в котором сопутствующие ангиоотеки выявляли у 66% лиц с ХСК [9].

Кроме того, у половины обследованных больных (47,2%) установили сочетание ХСК и хронической индуцированной крапивницы (ХИК) (табл. 1). Наиболее часто ХСК сопутствовала крапивница от давления (36,0%), что сопоставимо с данными Curto-Bagredo L. и соавторов [10].

Известно, что симптомы ХСК достаточно вариабельны в течение суток, и определить активность заболевания при обычном осмотре не всегда воз-

можно. В исследовании использовали опросник UAS7, согласно результатам которого тяжелое течение крапивницы установлено у 41 пациентов (32,8%), средней тяжести – у 36 (28,8%), легкое – у 48 (38,4%) (Рис. 1).

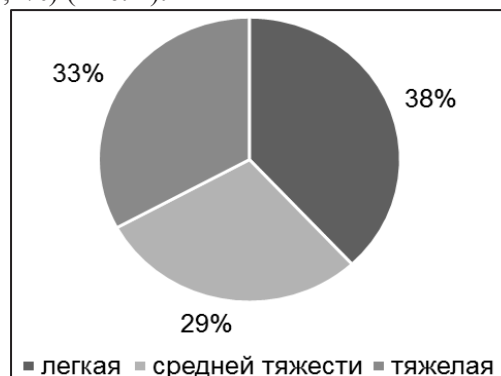


Рис. 1. Распределение пациентов с ХСК по тяжести течения.

При первом обращении в клинику неконтролируемое течение крапивницы, согласно опроснику UCT, отмечали 85,6% больных ХСК, что сопоставимо с результатами международного исследования, опубликованного в 2018 г. По данным Maurer M. и соавторов, среди 4224 пациентов из разных стран неконтролируемое течение ХСК было зарегистрировано у 77,5- 82,8% [11].

В настоящее время оценка качества жизни является необходимой частью ведения больных. В нашем исследовании мы использовали опросник DLQI, при заполнении которого во время первого визита (до начала лечения) установили, что чрезвычайное влияние на качество жизни хроническая спонтанная крапивница оказывала на 11% пациентов, сильное влияние – на 37% (n=38), умеренное – на 17% (n=17), легкое – на 27% (n=28), не оказывала – на 8% (n=8) (табл. 2).

Таблица 2

Тяжесть течения, контроль над заболеванием и влияние на качество жизни (по результатам заполнения опросников пациентами с ХСК).

| Показатели | Категории | Баллы | | абс. (%) |
|--------------------------------------|----------------------|-------|--------|------------|
| | | Ме | Q1;Q3 | |
| Опросник UAS7 (n=125) | | | | |
| Тяжесть течения крапивницы | легкая | 9 | 7; 14 | 48 (38,4) |
| | средней тяжести | 21 | 20; 24 | 36 (28,8) |
| | тяжелая | 38 | 32; 40 | 41 (32,8) |
| Опросник UCT (n=125) | | | | |
| Контроль заболевания | неконтролируемая | 4 | 3; 8 | 107 (85,6) |
| | контролируемая | 12 | 12; 14 | 18 (14,4) |
| Опросник DLQI (n=102) | | | | |
| Влияние крапивницы на качество жизни | нет влияния | 0 | 0; 1 | 8 (7,8) |
| | легкое влияние | 4 | 2; 5 | 28 (27,5) |
| | умеренное влияние | 9 | 8; 10 | 17 (16,7) |
| | сильное влияние | 14 | 12; 17 | 38 (37,2) |
| | чрезвычайное влияние | 6 | 25; 30 | 11 (10,8) |

В ходе современных исследований, направленных на изучение качества жизни пациентов с хронической крапивницей, выявили серьезные нарушения сна, социальную изоляцию, измененную эмоциональную сферу. Отметим, что проблемы могут быть связаны как с самим заболеванием, так и с проводимым лечением [5, 9]. По данным O'Donnell B.F., качество жизни больных ХСК сопоставимо с качеством жизни пациентов с ишемической болезнью сердца, ожидающих аортокоронарное шунтирование [12].

При оценке взаимосвязей результатов используемых в исследовании опросников отмечены следующие закономерности: установлена значимая отрицательная коррелятивная взаимосвязь количества баллов по шкале UAS7 с результатами опросника UCT ($r_s = -0,693$; $p < 0,001$), а также значимая положительная коррелятивная взаимосвязь с результатами DLQI ($r_s = 0,651$; $p < 0,001$). Выявленные взаимосвязи свидетельствуют, что при повышенной активности крапивницы, заболевание приобретает неконтролируемое течение, что отрицательно влияет на качество жизни пациентов (Рис. 2).

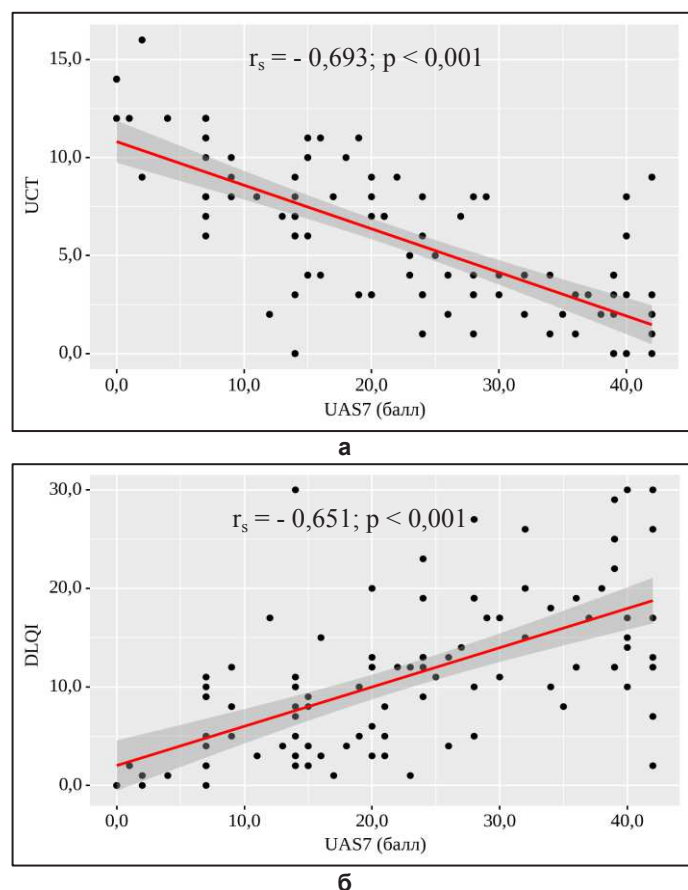


Рис. 2. Графики корреляционной связи количества баллов по шкале UAS7 с результатами опросников UCT (а) и DLQI (б).

Большой интерес для оценки течения ХСК представляет рутинный клинический анализ крови с лейкоцитарной формулой. По данным зарубежных и

отечественных авторов, для пациентов с активным течением ХСК характерно снижение уровня эозинофилов и базофилов, что, вероятно, связано с миграцией данных клеток из кровеносного русла в пораженные ткани или разрушением в крови посредством действия аутоантител [13].

В ходе исследования у всех больных ХСК оценивали количество эозинофилов и базофилов периферической крови. Эозинопенией считали абсолютное снижение количества эозинофилов ниже $0,05 \times 10^9/\text{л}$, базопенией – количество базофилов менее $0,01 \times 10^9/\text{л}$ [13, 14]. Базопению выявили у 49 (39,2%) пациентов с ХСК, эозинопению – у 34 (27,2%) (Рис. 3). Кроме того, установлена отрицательная корреляционная взаимосвязь активности крапивницы по шкале UAS7 с количеством эозинофилов периферической крови ($r_s = -0,267$; $p = 0,010$).

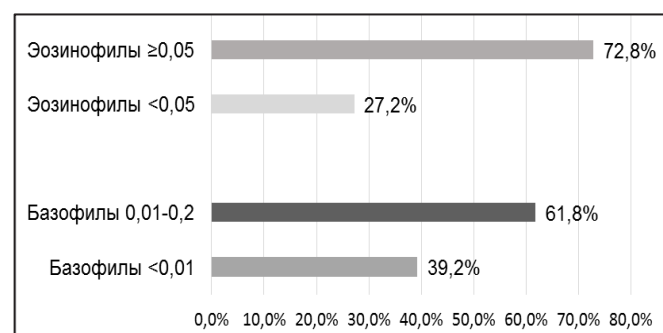


Рис. 3. Количество эозинофилов и базофилов у пациентов с ХСК ($\times 10^9/\text{л}$).

Полученные результаты сопоставимы с данными Kolkhig P. и соавторов, которые в своем исследовании выявили низкий уровень эозинофилов у 10% обследованных пациентов с ХСК и установили, что эозинопения была ассоциирована с базопенией, высокой активностью заболевания, положительной пробой с аутологичной сывороткой и аутоиммунной формой ХСК [13].

На современном этапе среди основных патогенетических механизмов ХСК выделяют накопление функциональных аутоантител к высокоаффинному рецептору для IgE и к IgE на поверхности тучных клеток и базофилов [1, 2, 15], а также функциональные нарушения базофилов, обусловленные дефектами в сигнальных механизмах активации клеток [5, 15]. ХСК, опосредованную накоплением функциональных гистамин-либерирующих аутоантител, считают аутоиммунной. По мнению различных авторов, аутоиммунная крапивница составляет до 45% случаев ХК [10, 15]. Для аутоиммунной крапивницы характерно более тяжелое течение. Больные часто резистентны к применению антигистаминных препаратов, в том числе и в повышенных дозах. Лечение аутоиммунной крапивницы включает применение препаратов третьей и четвертой ступени (омализумаб и циклоспорин).

Внутрикожная проба с аутологичной сывороткой (ПАС) является наиболее распространенным методом выявления аутореактивности, который прямо не подтверждает аутоиммунную природу крапивницы [7, 8]. Ряд экспертов считает, что ПАС можно рассматривать как метод скрининга. Отрицательный результат указывает на низкую вероятность участия аутоиммунных механизмов, а положительный – ассоциирован с более активным и продолжительным течением заболевания [7, 8, 15]. В нашем исследовании кожную аутореактивность, по итогам ПАС, выявили у 65 (60,7%) больных ХСК.

В последнее время фокус исследований патогенетических механизмов ХСК направлен на взаимосвязь возникновения уртикариев с заболеваниями щитовидной железы. Так, повышение уровня аутоантител к тиреоидной пероксидазе (ТПО) некоторые авторы связывают с развитием аутоиммунной формы ХК и более активным течением заболевания [16, 17]. В нашем исследовании уровень тиреотропного гормона (ТТГ) выше нормы (>4,2 мМЕ/л) [14] был зарегистрирован у 11 (8,8%) пациентов с ХСК, снижение данного показателя – у 4 (3,2%). Отметим, что повышение уровня антител к ТПО более 35 МЕ/мл установили у 28 (22,4%) человек. При анализе результатов UAS7 у пациентов в зависимости от наличия антител (АТ) к ТПО обнаружили следующую закономерность. Активность крапивницы у больных с повышенным уровнем АТ к ТПО была значимо выше по сравнению с пациентами, у которых АТ к ТПО были в пределах нормы (30 [20; 39] баллов vs 20 [13; 28] баллов, $p=0,037$). Полученные данные согласуются с исследованием Kolkhir P. и соавторов, которые выявили аутоиммунный тиреоидит у 25% больных ХСК [16].

IgE – ключевая молекула в каскаде аллергического воспаления, а также мишень для моноклонального антитела, используемого для лечения пациентов с ХСК. Однако результаты различных исследований уровня общего IgE в качестве прогностического маркера ответа на терапию неоднозначны [7, 8]. Многие авторы рассматривают повышенный уровень общего IgE в сыворотке крови до начала лечения как благоприятный маркер ответа на введение омализумаба [18, 19]. Кроме того, в работах последних лет продемонстрировано, что для аутоиммунной формы ХСК характерен низкий уровень общего IgE (менее 40 МЕ/мл) [17, 20].

Анализируя уровень общего IgE в нашей когорте пациентов с ХСК низкий уровень общего IgE (<40 МЕ/мл) выявили у 63 (50%) человек, а повышенный (>100 МЕ/мл) – у 33 (26%) (Рис. 4).

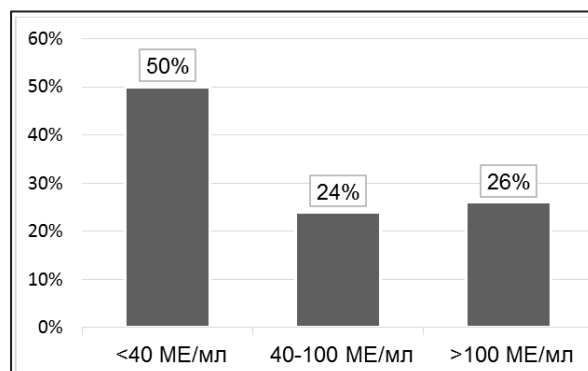


Рис. 4. Уровень общего IgE у пациентов с ХСК.

На следующем этапе для анализа клинико-лабораторных характеристик в зависимости от тяжести течения ХСК больных разделили на три группы, согласно оценке результатов по UAS7 [21]. Первую группу составили 48 пациентов с легкой ХСК (0-15 баллов), вторую – 36 человек с ХСК средней тяжести (16-27), третью – 41 больной с тяжелым течением (28-42 баллов) (табл.3).

Таблица 3

Сравнение клинико-лабораторных характеристик пациентов с ХСК в зависимости от тяжести течения крапивницы (по результатам UAS7), n= 125

| Показатель | Группа 1 | Группа 2 | Группа 3 | p |
|-----------------------------------------------|-------------------|---------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| | легкая ХСК (n=48) | средне-тяжелая ХСК (n=36) | тяжелая ХСК (n=41) | |
| UAS7, баллы (Me, Q1; Q3) | 9 (7; 14) | 21 (20; 24) | 38 (32; 40) | $p_{1-2} < 0,001^*$ $p_{2-3} < 0,001^*$ $p_{1-3} < 0,001^*$ |
| УСТ, неконтролируемое течение, n (%) | 30 (62,5) | 36 (100,0) | 41 (100,0) | $p_{1-2} = 0,002^{**}$ $p_{1-3} = 0,001^{**}$ |
| DLQI (баллы), (Me, Q1; Q3) | 4 (2; 9) | 11 (4; 13) | 17 (12; 20) | $p_{1-2} = 0,002^*$ $p_{2-3} < 0,001^*$ $p_{1-3} < 0,001^*$ |
| Отягощенная наследственность по атопии, n (%) | 16 (42,1) | 8 (22,2) | 5 (12,1) | $p_{1-2} = 0,134$ $p_{2-3} = 0,240$ $p_{1-3} = 0,008^{**}$ |
| Гипотиреоз, n (%) | 0 (0,0) | 1 (2,8) | 10 (24,4) | $p_{1-2} = 0,443$ $p_{1-3} < 0,001^{**}$ $p_{2-3} = 0,009^{**}$ |
| Антитела к ТПО >35 МЕ/мл, n (%) | 6 (12,5) | 8 (22,2) | 14 (34,1) | $p_{1-2} = 0,377$ $p_{2-3} = 0,279$ $p_{1-3} = 0,030^{**}$ |
| Эозинофилы, клеток/мкл, (Me, Q1; Q3) | 150 (90; 220) | 95 (22; 150) | 80 (50; 155) | $p_{1-2} = 0,032^*$ $p_{2-3} = 0,928$ $p_{1-3} = 0,024^*$ |
| Базофилы, клеток/мкл, (Me, Q1; Q3) | 20 (0; 40) | 9 (0; 29) | 10 (0; 36) | $p_{1-2} = 0,448$ $p_{2-3} = 0,362$ $p_{1-3} = 0,946$ |
| IgE, МЕ/мл, (Me, Q1; Q3) | 56 (10; 102) | 31 (9; 156) | 20 (9; 63) | $p_{1-2} = 0,717$ $p_{2-3} = 0,669$ $p_{1-3} = 0,317$ |

Примечание: * – значимость критерия Манна–Уитни; ** – значимость критерия χ^2 .

При анализе данных исследуемых групп не обнаружили различий по возрасту, полу, продолжительности заболевания.

В ходе сравнительной оценки результатов опросников UCT и DLQI в исследуемых группах выявили у пациентов с тяжелым течением ХСК отсутствие контроля заболевания ($p < 0,05$), а также наибольшее влияние крапивницы на качество жизни ($p < 0,05$).

Обращает внимание большая доля лиц с отягощенной наследственностью по атопии в группе больных с легким течением по сравнению с группой с тяжелым течением ХСК (42,1% vs 12,1%, $p = 0,008$), что указывает на необходимость проведения дополнительных, более масштабных исследований в этой области. Кроме того, в группе лиц с тяжелым течением ХСК была выявлена большая доля пациентов с гипотиреозом ($p < 0,05$) и повышенным титром АТ к ТПО ($p < 0,05$). Полученные результаты подтверждают важную роль нарушений функции щитовидной железы в патогенезе ХСК и их влияние на тяжесть течения заболевания.

В группе больных с тяжелым течением ХСК было зарегистрировано наименьшее медианное значение уровня эозинофилов периферической крови, которое составило 80 (50;155) клеток/мкл и было значительно ниже по сравнению с группой с легким течением (150 (90;220) клеток/мкл ($p = 0,024$)). Также выявлены значимые различия данного показателя в группах с легким и среднетяжелым течением ХСК: 150 (90;220) клеток/мкл vs 95 (22;150) клеток/мкл, p

= 0,032. По содержанию базофилов в периферической крови и уровню общего IgE в сыворотке крови исследуемые группы не различались.

Установленные в ходе нашей работы клинико-функциональные особенности пациентов указывают на необходимость дальнейших исследований маркеров тяжелого течения ХСК, которые могут быть использованы врачами различных специальностей в реальной клинической практике для повышения эффективности диагностики, лечения и прогноза данного заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Хронической спонтанной крапивницей болеют преимущественно женщины (73%), медиана возраста пациентов – 42 года.

2. Основными клинико-лабораторными показателями больных ХСК были: наличие ангиоотечков – 68,8%, сочетание с ХИК – 47,2%, снижение уровня базофилов – 39,2% и эозинофилов – 27,2% периферической крови, уровень общего IgE < 40 МЕ/мл – 50%.

3. Тяжелое течение ХСК, по результатам индекса активности крапивницы, установили у 33% пациентов. Тяжелое течение ХСК было ассоциировано с отсутствием контроля заболевания, низким качеством жизни, низким уровнем эозинофилов в периферической крови, а также дисфункцией щитовидной железы (гипотиреоз, повышение титра АТ к ТПО).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Крапивница* (клинические рекомендации). М., 2019. 60 p. [Urticaria (clinical recommendations). M., 2019. 60 p. (In Russ)].
2. Zuberbier T., Aberer W., Asero R., et al. The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* 2018; 73 (7): 1393-1414. doi.org/10.1111/all.13414
3. Fricke J., Avila G., Keller T., et al. Prevalence of chronic urticaria in children and adults across the globe: Systematic review with meta-analysis. *Allergy.* 2020; 75 (2): 423-432. doi: 10.1111/all.14037
4. Saini S.S., Kaplan A.P. Chronic spontaneous urticaria: the devil's itch. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract. Elsevier.* 2018; 6 (4): 1097-1106. doi.org/10.1016/j.jaip.2018.04.013
5. Sánchez-Borges M., Ansoategui I., Baiardina I., et al. The challenges of chronic urticaria part 1: Epidemiology, immunopathogenesis, comorbidities, quality of life, and management. *World Allergy Organ. J. Elsevier.* 2021; 14 (6): 100533. doi.org/10.1016/j.waojou.2021.100533
6. Ефанова Е.Н., Васильева Е.А., Кобылянская Н.В. и др. Анализ индекса качества жизни DLQI (the Dermatology Life Quality Index) у пациентов с различными дерматологическими нозологиями. Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2019; 21 (6): 22-26. [Efanova E.N., Vasileva E.A., Koblyanskaya N.V., et al. Analysis of the DLQI (the dermatology life quality index) quality of life index in patients with various dermatological nosologies. *Journal of scientific articles "Health and education in the XXI century"*. 2019; 21 (6): 22-26 (In Russ)]. doi: 10.26787/nydha-2226-7425-2019-21-6-22-26
7. Puxeddu I., Petrelli F., Angelotti F., et al. Biomarkers in chronic spontaneous urticaria: Current targets and clinical implications. *J. Asthma Allergy.* 2019; 12: 285-295. doi.org/10.2147/JAA.S184986
8. Бурьгина Е.В., Козлова Я.И., Клишко Н.Н. Хроническая спонтанная крапивница: диагностические и прогностические маркеры. *Врач. Russkiy Vrach Publishing House.* 2020; 31 (7): 10-17. [Burygina E.V., Kozlova Ya.I., Klimko N.N. Chronic spontaneous urticaria: markers for diagnosis and prognosis. *Doctor. Russian Doctor Publishing*

House. 2020; 31 (7): 10-17 (In Russ)]. doi.org/10.29296/25877305-2020-07-02

9. *Sussman G., Abuzakouk M., Berard F., et al.* Angioedema in chronic spontaneous urticaria is underdiagnosed and has a substantial impact: Analyses from ASSURE-CSU. *Allergy*. John Wiley & Sons, Ltd, 2018; 73 (8): 1724-1734. doi.org/10.1111/all.13430

10. *Curto-Barredo L., Pujol R., Roura-Vives G., et al.* Chronic urticaria phenotypes: clinical differences regarding triggers, activity, prognosis and therapeutic response. *Eur. J. Dermatology*. 2019; 29 (6): 627-635. doi.org/10.1684/ejd.2019.3674

11. *Maurer M., Houghton K., Costa C., et al.* Differences in chronic spontaneous urticaria between Europe and Central/South America: results of the multi-center real world AWARE study. *World Allergy Organ. J. Elsevier*. 2018; 11 (1): 32. doi.org/10.1186/s40413-018-0216-1

12. *O'Donnell B.F.* Urticaria: Impact on quality of life and economic cost. *Immunol. Allergy Clin. North Am. Elsevier*. 2014; 34 (1): 89-104. doi.org/10.1016/j.iac.2013.09.011

13. *Kolkhir P., Church M., Altricher S., et al.* Eosinopenia, in chronic spontaneous urticaria, is associated with high disease activity, autoimmunity, and poor response to treatment. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract. Elsevier*. 2020; 8 (1): 318-325.e5. doi.org/10.1016/j.jaip.2019.08.025

14. *Кишкун А.А.* Клиническая лабораторная диагностика: учебное пособие. М: ГЭОТАР-Медиа, 2010: 976 p. [Kishkun A.A. Clinical laboratory diagnostics: a textbook. M: GEOTAR-Media, 2010: 976 p. (In Russ)].

15. *Bracken S.J., Abraham S., MacLeod A.S.* Autoimmune theories of chronic spontaneous urticaria. *Front Immunol*. 2019; 10: 627. doi: 10.3389/fimmu.2019.00627.

16. *Kolkhir P., Metz M., Altricher S., et al.* Comorbidity of chronic spontaneous urticaria and autoimmune thyroid diseases: A systematic review. *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol. Wiley-Blackwell*, 2017; 72 (10). doi.org/10.1111/all.13182

17. *Kolkhir P., Church M., Weller K., et al.* Autoimmune chronic spontaneous urticaria detection with IgG anti-TPO and total IgE. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract. Elsevier*. 2021; 9 (11): 4138-4146.e8. doi.org/10.1016/j.jaip.2021.07.043

18. *Fok J.S., Kolkhir P., Church M., et al.* Predictors of treatment response in chronic spontaneous urticaria. *Allergy*. John Wiley & Sons, Ltd, 202; 76 (10): 2965-2981. doi.org/10.1111/all.14757

19. *Altrichter S., Fok J., Jiao Q., et al.* Total IgE as a marker for chronic spontaneous urticaria. *Allergy, Asthma Immunol. Res. Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology*. 2021; 13 (2): 206-218. doi.org/10.4168/aaair.2021.13.2.206

20. *Schoepke N., Asero R., Ellrich A., et al.* Biomarkers and clinical characteristics of autoimmune chronic spontaneous urticaria: Results of the PURIST Study. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2019; 74 (12): 2427-2436. doi.org/10.1111/all.13949

21. *Hawe E., McBride D., Balp M., et al.* EQ-5D utilities in chronic spontaneous/idiopathic urticaria. *Pharmacoeconomics*. Springer International Publishing. 2016; 34 (5): 521-527. doi.org/10.1007/s40273-015-0375-7

Поступила в редакцию журнала 30.12.2021

Рецензент: М.А. Шевяков

ЛАЗЕРНОЕ УДАЛЕНИЕ НОГТЕВОГО ВАЛИКА – ОДИН ИЗ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ ВРОСШЕГО НОГТЯ

Корнишева В.Г. (профессор кафедры)*, Ша-тохина А.В. (дерматовенеролог), Вашкевич А.А. (доцент)

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

Вросший ноготь (онихокриптоз) – это патологический процесс, возникающий в ответ на врастание свободного края ногтя стопы в боковой валик. При лечении вросшего ногтя чаще всего прибегают к хирургическому лечению. Этот метод травматичен и часто даёт рецидивы. В настоящее время классические хирургические способы удаления ногтя сочетаются с использованием лазера. За период с 2018 по 2021 гг. удаление ногтевых валиков полупроводниковым лазером «Латус» было проведено 7 больным, из которых у 4 был односторонний вросший ноготь большого пальца стопы, у 2 – двустороннее поражение 1 пальца стопы и у 1 – онихокриптоз 1-3 пальцев стопы. Чаще всего наблюдали вросший ноготь I-II стадии. Двое пациентов ранее получали хирургическое лечение. Период заживления составил 4 недели. Все пациенты остались довольны косметическим результатом, осложнения отсутствовали. При наблюдении за больными от 6 месяцев до 3 лет рецидива вросшего ногтя не отмечено. Лазерное удаление гипертрофированного околоногтевого валика является эффективным методом лечения при вросшем ногте I- II стадии.

Ключевые слова: вросший ноготь, онихокриптоз, полупроводниковый лазер «Латус»

LASER REMOVAL OF A NAIL FOLD IS ONE OF THE METHODS OF TREATING AN INGROWN TOENAIL

Kornisheva V.G. (professor of the department), Shatokhina A.V. (dermatovenerologist), Vashkevich A.A. (associate professor)

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

An ingrown toenail (onychocryptosis) is a pathological process that occurs in response to the ingrowth of the free edge of the toenail into the lateral ridge. When treating an ingrown toenail, surgical treatment is most often used. This method is traumatic and often gives relapses. Currently, the

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

classic surgical methods for nail removal are combined with the use of a laser. From 2018 to 2021 removal of nail fold with a semiconductor laser «Latus» was performed in 7 patients, of whom 4 had a unilateral ingrown nail of the big toe, 2 – had a bilateral lesion of 1 toe and 1 – had onychocryptosis of 1-3 toes. Most often, an ingrown nail of stage I-II was observed. Two patients had previously received surgical treatment. The healing period was 4 weeks. All patients were satisfied with the cosmetic result, there were no complications. When monitoring patients from 6 months to 3 years, there was no recurrence of ingrown nail. Laser removal of the hypertrophied nail fold is an effective method of treatment for ingrown toenail of stage I- II.

Key words: ingrown toenail, onychocryptosis, semiconductor laser «Latus»

ВВЕДЕНИЕ

Вросший ноготь (онихокриптоз) – это патологический процесс, возникающий в ответ на врастание свободного края ногтя в боковой валик и проявляющийся воспалением, присоединением вторичной инфекции и разрастанием гипергрануляций. Причины развития онихокриптоза: неправильная обработка ногтей (срезание углов ногтя по косой), деформация стопы, чрезмерная длина большого или среднего пальца, перекрещивающиеся пальцы, некоторые виды обуви (узкая модельная обувь или на высоких каблуках, туфли на платформе) [1].

При лечении вросшего ногтя чаще всего прибегают к хирургическому лечению с частичным или полным удалением ногтевой пластины и имеющихся грануляций. В настоящее время активно применяют методы неоперационной ортопедической коррекции роста ногтевой пластинки (ортониксия), которые позволяют с помощью специальных скоб и пластин исправить её рост [2].

Хирургическое лечение нередко даёт рецидивы (20-50%), что побуждает к поиску новых технологий терапии [3]. Наиболее перспективным направлением в хирургическом лечении вросшего ногтя является использование лазерного луча [4].

В дерматологии и косметологии лазер применяют последние 20 лет, и за это время он уже доказал высокую эффективность в терапии дерматологических заболеваний. Для усиления антимикотического эффекта при лечении онихомикоза используют две лазерные технологии: Q-Switched 1064/532 нм и длинноимпульсный Nd:YAG: 1064 нм лазер [5, 6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В НИИ медицинской микологии с 2018 по 2021 гг. лазерное удаление ногтевых валиков с помощью полупроводникового лазера «Латус» было проведено 7 больным в возрасте от 42 лет до 61 года (3 мужчин, 4 женщины), из которых у 4 был односторонний вросший ноготь большого пальца стопы, у 2 – двустороннее поражение 1 пальца стопы и у 1 – они-

хокриптоз 1-3 пальцев стопы. Чаще всего наблюдали выросший ноготь I-II стадии. Два человека ранее получали хирургическое лечение. Период заживления составил 4 недели. Все пациенты остались довольны косметическим результатом, осложнения отсутствовали. При наблюдении за больными от 6 месяцев до 3 лет рецидива выросшего ногтя ни у одного больного не отмечено. В качестве примера приводим клиническое наблюдение.

Описание случая

Пациентка Т., 60 лет, считает себя больной в течение последних трех лет, когда в результате деформации стопы на фоне имеющегося сахарного диабета 2 типа стала вращаться ногтевая пластина 1 пальца левой стопы. В течение последнего года начался онихокриптоз II и III пальцев левой стопы. Сначала женщина не придавала должного значения данному поражению, считала, что причиной является ношение тесной неудобной обуви и ушиб пальцев. Занималась самолечением, которое первое время помогало. Пациентка решила обратиться к врачу, только когда боль стала беспокоить постоянно, и на коже вокруг ногтя появились видимые изменения.

Периодически обращалась за помощью к дерматологу, врачу-подологу, но проводимая консервативная терапия была неэффективна. При осмотре в клинике выявлен онихокриптоз I-III пальцев левой стопы (фото 1).



Фото 1. Пациентка, Т. Вросшие ногти I-III пальцев левой стопы.

Под местной анестезией 2% раствором лидокаина больной проведена лазерная вапоризация гипертрофированных околоногтевых валиков I-III пальцев левой стопы с помощью полупроводникового лазера «Латус» (длина волны излучения – 810нм) с выходной оптической мощностью 7 Вт в непрерывном режиме (фото 2, 3).



Фото 2. Пациентка, Т. II-III пальцы левой стопы после лазерной вапоризации боковых валиков.



Фото 3. Пациентка, Т. I-II пальцы левой стопы после лазерной вапоризации боковых валиков.

Далее в течение 10-14 дней форма околоногтевых складок формировалась турундами с мазями, содержащими антибиотики и диоксометилтетрагидропиримидин (метилурацил). перевязки проводили 2-3 раза в неделю, перед которыми раны обрабатывали 5% раствором перманганата калия с последующим применением порошка с цинк-бацитрацином (250 МЕ) и сульфатом неомицина (5000 МЕ). Процесс заживления составил 4 недели (фото 4).

Через 4 недели после вапоризации для профилактики повторного врастания валиков была проведена постановка коррекционных пластин. В течение последующего года рецидива выросших ногтей не отмечено.



Фото 4. Пациентка, Т. II-III пальцы левой стопы спустя 4 недели после лазерного лечения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Боковое врастание ногтя является конечным результатом воздействия таких факторов, как:

- глубокое срезание свободного и латерального края ногтевой пластинки (непрофессиональный педикюр);
- гипергидроза стоп, следствием которого является размягчение ногтевой пластинки, размягчение кожи ногтевого валика;
- изменение структуры ногтя вследствие онихомикоза и гипергидроза;
- функциональная слабость стопы, которая приводит к уплощению поперечного свода с последующим формированием вальгусного положения пальца;
- перераспределение и увеличение нагрузки на I палец стопы (ношение узкой обуви или на высоком каблуке, ожирение) [1, 3, 7].

Из вышеперечисленных факторов у представленной пациентки предрасполагающими причинами развития онихокриптоза I пальца стопы были непрофессиональный педикюр, ношение тесной обуви и ожирение. Распространению онихогрифоза на другие пальцы способствовала прогрессирующая деформация стопы на фоне сахарного диабета второго типа. На момент лечения сахарный диабет был компенсирован (уровень глюкозы в крови – 6,1 ммоль/л), несмотря на это кровоснабжение мягких тканей пальцев нарушалось.

В результате вышеперечисленных факторов при неправильном подрезании ногтей дистальные части ногтевых валиков гипертрофируются. Свободный край отрастающего ногтя начинает упираться в боковой валик, тем самым стимулируя его разрастание и формирование на поздних стадиях патологическо-

го процесса грануляций с присоединением вторичной инфекции. Самостоятельные подрезания уголка ногтя дают кратковременный положительный эффект, и вскоре врастание начинается вновь. Из оставшегося участка ногтя может образовываться шип, пронзающий боковой ногтевой валик (что является причиной вторичной инфекции) и стимулирующий образование избыточной ткани, сопровождающийся болью. На I стадии онихокриптоза боковой валик гиперемирован и отечен, но не перекрывает границу с ногтевой пластинкой. Для второй стадии характерно присоединение вторичной инфекции, появляется серозное отделяемое, и ногтевой валик перекрывает поверхность ногтя не более чем на 3 мм. В третьей стадии симптомы становятся более интенсивными, и гипертрофия ногтевого валика покрывает большую часть поверхности ногтя [8]. Особенностью представленного клинического случая является двустороннее поражение боковых валиков I-III пальцев левой стопы на разных стадиях развития – I-II (фото 1), что редко встречается.

Метод лечения вросшего ногтя зависит от стадии поражения, а также наличия осложнений и сопутствующих заболеваний. Тяжелые формы требуют хирургического вмешательства [3, 7-9].

На начальных этапах развития онихокриптоза применяют простые меры, включающие исправление неподходящей обуви, лечение гипергидроза или онихомикоза. Обязательная гигиеническая мера – дезинфицирующие ножные ванночки с последующим нанесением на околоногтевой валик топического кортикостероида средней или высокой активности и подведение зубной нити под вросший боковой край ногтя [9]. Ортониксия – это современная методика, позволяющая безболезненно при помощи скоб выровнять ноготь и перераспределить давление ногтя на ногтевое ложе и боковой валик [9]. По данным Н.Н. Потекаева и А.А. Цыкина (2010), эффективность комбинированного метода лечения вросшего ногтя с применением баноцина и ортониксии составила 93,3% [2].

Для лечения вросших ногтей применяется большое количество хирургических методов, часть из которых направлена на удаление ногтя (или его части) или сужение ногтевой пластинки. Процедуры, направленные на уменьшение размера ногтей, включают химическое прижигание или частичную матриксэктомию. После удаления ногтя нередко бывает рецидив онихокриптоза. Другие методы ориентированы на устранение взаимодействия между ногтевой пластинкой и околоногтевым валиком, проводится удаление гипертрофированного ногтевого валика или удаление и ногтевого валика, и ногтя [3, 7-10]. В настоящее время классические хирургические способы удаления ногтя сочетаются с использованием лазера [4, 10]. Лазерная терапия обладает рядом пре-

имуществ: низкая травматичность, короткий срок восстановления и снижение риска повторного врастания (рецидива) ногтя. С помощью лазера возможно безболезненное удаление ногтевого валика, ногтевой пластинки, части ногтя, гипергрануляций, воспалительных и гнойных образований [4]. Эффективно применение высокоинтенсивного излучения углекислотного лазерного аппарата Ланцет, с помощью которого бесконтактным способом проводились резекция ногтевой пластины, вапоризация гипергрануляций и деструкция матрикса с хорошим гемостатическим эффектом, без наложения швов на послеоперационную рану. Рецидив заболевания отмечали в 6,5% случаев [10]. Оптимальность использования лазера обусловлена дезинфицирующим действием на окружающие ткани, минимальностью кровотечения и удовлетворительными отдаленными результатами [7].

В нашем клиническом наблюдении применение полупроводникового лазера «Латус» позволило выполнить вапоризацию гипертрофированных около-

ногтевых валиков с хорошим гемостатическим эффектом. Раны после лазеротерапии заживали в течение 4 недель. Таким образом, при врастшем ногте I- II стадии лазерное удаление гипертрофированных ногтевых валиков стоп было эффективно. Рецидивирование онихокриптоза отсутствовало.

Для профилактики врастшего ногтя, помимо соблюдения гигиены стоп и своевременного лечения микотической инфекции у дерматолога, необходимо соблюдать правильную технику подрезания ногтей. Ногтевые пластинки стоп следует подстригать по прямой линии, проходящей не ниже верхушки пальца, острыми прямыми маникюрными ножницами. Края ногтя надо подпиливать пилочкой по углам, чтобы они были гладкими и не травмировали кожу [1, 3, 9].

Таким образом, лазерная терапия, обладая рядом преимуществ (низкая травматичность, короткий срок восстановления и снижение риска повторного рецидива), является перспективным методом лечения врастших ногтей I-II стадии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Родионов А.Н., Смирнова И.О., Корнищева В.Г. Дерматология для косметологов. Изд-во «Наука и Техника». 2014; 565-595. [Rodionov A.N., Smirnova I.O., Kornisheva V.G. Dermatology for cosmetologists. Publishing house "Scienceand Technology". 2014; 565-595 (In Russ)].
2. Потехаев Н.Н., Цыкин А.А. Лечение врастшего ногтя с применением метода ортониксии и наружной антибиотикотерапии. Клиническая дерматология и венерология. 2010; 3: 52-59. [Potekayev N.N., Tsykin A.A. Ingrown nail treatment using the method of orthonychia and topical antibiotic therapy. Clinical dermatology and venereology. 2010; 3: 52-59 (In Russ)].
3. Сонис А.Г., Столяров Е.А., Суслин С.А. и др. Вросший ноготь – история вопроса, актуальность и современные подходы к лечению. Наука и инновации в медицине. 2018; 3 (3): 64-72. [Sonis A.G., Stolyarov E.A., Suslin S.A., et al. Ingrown toenail – the history of the issue, relevance and modern approaches to treatment. Science and innovation in medicine. 2018; 3 (3): 64-72 (In Russ)]. doi.org/10.35693/2500-1388-2018-0-3-64-72
4. Листратенков К.В., Лелянов А.Д., Логоватовский О.В. Способ оптимизации лазерохирургического лечения врастшего ногтя. Мед. Альманах. 2013; 3: 114-115. [Listratenkov K.V., Lelyanov A.D., Logovatovsky O.V. Method of optimization of laser surgical treatment of ingrown toenail. Med. Almanac. 2013; 3: 114-115 (In Russ)].
5. Олисова О.Ю., Пинсон И.Я., Акмаева А.Р. Лазерные технологии в лечении онихомикозов. РМЖ. 2014; 8: 635. [Olisova O.Yu., Pinson I.Ya., Akmayeva A.R. Laser technologies in the onychomycosis treatment. RMZH. 2014; 8: 635 (In Russ)].
6. Корнищева В.Г., Шепило С.А. Лазеротерапия онихомикозов (обзор). Проблемы медицинской микологии. 2017; 19 (3): 8-12. [Kornisheva V.G., Shepilo S.A. Laser therapy of onychomycoses (review). Problems in Medical Mycology. 2017; 19 (3): 8-12 (In Russ)].
7. Haneke E. Controversies in the treatment of ingrown nails. Dermatol. Res. Pract. 2012; 2012: 783924. doi: 10.1155/2012/783924
8. Correa J., Magliano J., Agorio C., Bazzano C. Super U technique for ingrown nails. Actas Dermosifiliogr. 2017; 108 (5): 438-444. doi: 10.1016/j.ad.2017.01.010
9. Mayeaux E.J., Carter C., Murphy T.E. Ingrown toenail management. Am. Fam. Physician. 2019; 100 (3):158-164. PMID: 31361106
10. Пантелеев В.С., Заварухин В.А., Баязитова Г.Р. Хирургическое лечение с применением лазера при врастшем ногте первого пальца стопы, осложненного гнойным воспалением. Мед.вест. Башкортостана. 2015; 10 (58):4: 86-88. [Panteleev V.S., Zavarukhin V.A., Bayazitova G.R. Surgical treatment with laser for ingrown toenail of the first toe complicated by purulent inflammation. Midwest. of Bashkortostan. 2015; 10 (58). 4: 86-88 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 10.01.2022

Рецензент: Р.А. Раводин

ИЗУЧЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ МУКОРОМИЦЕТОВ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ИНВАЗИВНОГО МУКОРМИКОЗА У МЫШЕЙ

¹Босак И.А. (с.н.с.), ¹Выборнова И.В. (н.с.), ¹Чилина Г.А. (зав. лаб.), ¹Павлова И.Э. (н.с.), ¹Богомолова Т.С. (зав. лаб.)*, ¹Тараскина А.Е. (зав. лаб.), ²Чжан Ф. (профессор), ¹Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

¹НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; ²Харбинский Медицинский Университет, Харбин, Китай

В статье приведены результаты сравнительного исследования вирулентности клинических изолятов шести видов мукоромизетов из трех родов грибов. На модели интраназального заражения мышей на фоне нейтропении, индуцированной циклофосфаном, выявлены межродовые, межвидовые и штаммные различия по летальному действию на мышей. *Rhizomucor pusillus* и *Lichtheimia* spp. были более патогенны, чем *Rhizopus* spp.

Ключевые слова: мукоормикоз, экспериментальная модель, вирулентность, летальность

INVESTIGATION OF CLINICAL MUCORALEAN ISOLATES VIRULENCE ON THE EXPERIMENTAL MURINE MODEL OF INVASIVE MUCORMYCOSIS

¹Bosak I.A. (senior scientific researcher), ¹Vybornova I.V. (scientific researcher), ¹Chilina G.A. (head of the laboratory), ¹Pavlova I.E. (scientific researcher), ¹Bogomolova T.S. (head of the laboratory), ¹Taraskina A.E. (head of the laboratory), ²Zhang F. (professor), ¹Vasilyeva N.V. (director of the institute, head of the department)

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

The article presents results of the comparative study on clinical mucoralean isolates virulence (6 species of 3 genera).

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

Using the experimental model with intranasal infection of neutropenic cyclophosphamide treated mice differences in virulence between genera, species and strains were revealed. *Rhizomucor pusillus* and *Lichtheimia* spp. were more virulent in comparison with *Rhizopus* spp.

Key words: mucormycosis, experimental model, virulence, lethality

Мукоормикоз – тяжелая оппортунистическая инфекция, поражающая преимущественно пациентов с некомпенсированным сахарным диабетом и онкогематологическими заболеваниями [1]. В настоящее время наблюдается рост заболеваемости мукоормикозом в связи с пандемией COVID-19. В Индии установлено более 40 тысяч случаев мукоормикоза у пациентов, заболевших новой коронавирусной инфекцией [2]. К наиболее частым возбудителям мукоормикоза относятся микромицеты из трех родов порядка *Mucorales*: *Rhizopus* (*R. arrhizus*, *R. microsporus*), *Lichtheimia* (*L. corymbifera*, *L. ramosa*, *L. ornata*) и *Rhizomucor* (*Rhizomucor pusillus*) [3]. При изучении вирулентности природных и клинических изолятов мукоромизетов в экспериментальных моделях на животных были выявлены межвидовые и межштаммовые различия [4-6]. Механизмы патогенеза мукоормикоза, биологические особенности возбудителей, факторы вирулентности, патогенный потенциал различных видов и штаммов возбудителей этого заболевания изучены недостаточно.

Цель нашего исследования: изучить вирулентность различных видов и штаммов мукоромизетов, выделенных от пациентов в России, на разработанной нами экспериментальной модели инвазивного мукоормикоза легких у мышей [7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы грибов. Изучено 19 штаммов мукоромизетов (*Lichtheimia ramosa* – 4, *L. corymbifera* – 5, *L. ornata* – 1, *Rhizopus arrhizus* – 3, *R. microsporus* – 2, *Rhizomucor pusillus* – 4), выделенных от больных мукоормикозом в Санкт-Петербурге в период с 2009 по 2019 гг. (табл.1). Видовая идентификация была подтверждена методом секвенирования по Сэнгеру локусов рибосомальной ДНК: LSU (большой субъединицы) и/или ITS (внутреннего транскрибируемого спейсера).

Таблица 1

Штаммы мукоромизетов, использованные в работе

| № п.п. | № штамма | Вид | Источник | Данные ДНК секвенирования |
|--------|-------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 1 | РКПГ F 1456 | <i>Lichtheimia ramosa</i> | промывные воды бронхов | Идентичность 100%, LSU |
| 2 | РКПГ F 1969 | <i>Lichtheimia ramosa</i> | бронхоальвеолярный лаваж | Идентичность 100%, ITS |
| 3 | РКПГ F 2007 | <i>Lichtheimia ramosa</i> | бронхоальвеолярный лаваж | Идентичность 100%, ITS |
| 4 | РКПГ | <i>Lichtheimia</i> | мягкие ткани ротовой | Идентичность |

| | | | | |
|----|-------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| | F 2019 | <i>ramosa</i> | полости | 100%, ITS |
| 5 | РКПГ F 1493 | <i>Lichtheimia corymbifera</i> | содержимое околоносовых пазух | Идентичность 100%, LSU, ITS |
| 6 | РКПГ F 1568 | <i>Lichtheimia corymbifera</i> | отделяемое из раны на лице | Идентичность 100%, LSU |
| 7 | РКПГ F 1601 | <i>Lichtheimia corymbifera</i> | биоптат из левого носового хода | Идентичность 100%, LSU |
| 8 | РКПГ F 1837 | <i>Lichtheimia corymbifera</i> | биоптат лёгкого | Идентичность 100%, LSU |
| 9 | РКПГ F 2020 | <i>Lichtheimia corymbifera</i> | придаточные пазухи носа | Идентичность 100%, ITS |
| 10 | РКПГ F 1507 | <i>Lichtheimia ornata</i> | биоптат пазухи носа | Идентичность 100%, LSU, ITS |
| 11 | РКПГ F 1379 | <i>Rhizopus arrhizus</i> | раневое отделяемое | Идентичность 100%, LSU, ITS |
| 12 | РКПГ F 1537 | <i>Rhizopus arrhizus</i> | бронхоальвеолярный лаваж | Идентичность 100%, LSU, ITS? 28s pHК |
| 13 | РКПГ F 2027 | <i>Rhizopus arrhizus</i> | бронхоальвеолярный лаваж | Идентичность 100%, ITS |
| 14 | РКПГ F 1497 | <i>Rhizopus microsporus</i> | бронхоальвеолярный лаваж | Идентичность 100%, LSU |
| 15 | РКПГ F 1538 | <i>Rhizopus microsporus</i> | биоптат кишки | Идентичность 100%, LSU |
| 16 | РКПГ F 1545 | <i>Rhizomucor pusillus</i> | биоптат лёгкого | Идентичность 100%, ITS |
| 17 | РКПГ F 1648 | <i>Rhizomucor pusillus</i> | бронхоальвеолярный лаваж | Идентичность 100%, LSU |
| 18 | РКПГ F 1845 | <i>Rhizomucor pusillus</i> | бронхоальвеолярный лаваж | Идентичность 100%, ITS |
| 19 | РКПГ F 1892 | <i>Rhizomucor pusillus</i> | бронхоальвеолярный лаваж | Идентичность 100%, ITS |

Лабораторные животные. Использовали самцов беспородных белых мышей с массой тела 18-20 г. Для введения животных в состояние нейтропении внутривенно вводили эндоксан (циклофосфан) в дозе 150 мг/кг четырёхкратно (-3, 0, 4 и 8 день).

Методика заражения. Из трехсуточной культуры гриба на агаре Сабуро готовили взвесь спор в стерильном 0,85% растворе NaCl концентрацией $1 \cdot 10^7$ КОЕ/мл. Заражение мышей выполняли путём интраназального введения наркотизированным животным 50 μ л взвеси спор грибов.

Наблюдение за инфицированными мышами проводили ежедневно и учитывали количество погибших в группах. В день гибели животного стерильно извлекали ткани для культурального исследования. Выживших к дню окончания эксперимента мышей умерщвляли путем спинальной дислокации и отбирали материал для культурального исследования. Оценку наличия гриба в тканях зараженных животных осуществляли путем посева тканей лёгких и головного мозга погибших мышей на среду Сабуро агар методом отпечатков. Чашки инкубировали в термостате в течение 3-х суток, подсчитывали количество выросших колоний мукоромицетов. Идентификацию выделенных культур проводили по морфологическим признакам.

Оценку вирулентности штаммов выполняли путем сравнения выживаемости животных методом Каплана-Мейера. Данные статистически обрабатывали с помощью программы STATISTICA for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вирулентность штаммов *Lichtheimia* spp. По результатам анализа выживаемости лабораторных животных после инфицирования (Рис. 1) штаммы *Lichtheimia* spp. были распределены на две группы: сильно вирулентные и слабо вирулентные. К сильно вирулентным были отнесены штаммы *Lichtheimia* spp., вызвавшие гибель 100% зараженных животных через 5-18 дней после заражения; к слабо вирулентным отнесены штаммы, вызвавшие за период наблюдения (25 сут.) гибель менее 100% (40%- 90%) мышей.

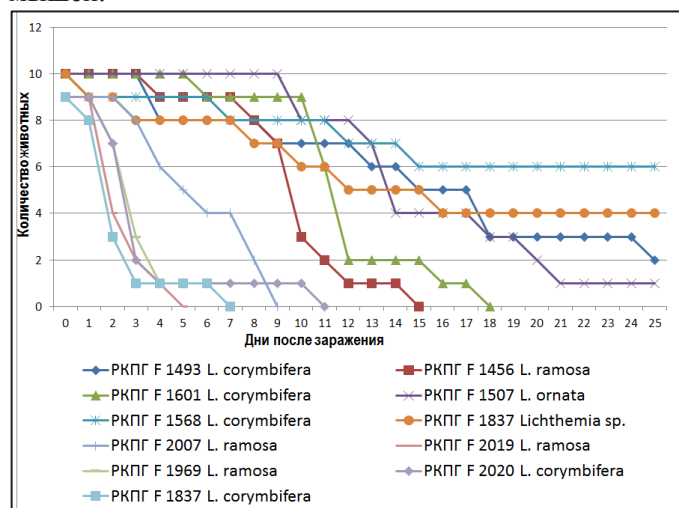


Рис. 1. Выживаемость мышей после заражения различными штаммами *Lichtheimia* spp.

Различия в летальности для животных между группой сильно вирулентных штаммов *Lichtheimia* spp. и группой слабо вирулентных штаммов были статистически достоверны ($p=0,00009$) (Рис. 2). В группу сильно вирулентных штаммов вошли все 4 штамма *L. ramosa* и 2 штамма *L. corymbifera* (РКПГ F 1837 и РКПГ F 2020), в группу слабо вирулентных – остальные 3 штамма *L. corymbifera* и штамм *L. ornata*.

Медиана выживаемости для животных, зараженных *L. ornata* РКПГ F 1507, составила 14 суток, на день окончания наблюдения выжила одна мышь (10%). В группе заражения *L. corymbifera* РКПГ F 1493 медиана выживаемости составила 15 суток с двумя выжившими мышами (20%) на 25-й день после инфицирования. В день окончания эксперимента в группе животных, зараженных *L. corymbifera* РКПГ F 1837, выжило четыре мыши (40%) с медианой выживаемости 12 суток. В группе заражения *L. corymbifera* РКПГ F 1568 выжило шесть животных (60%) с медианой выживаемости >25 суток.

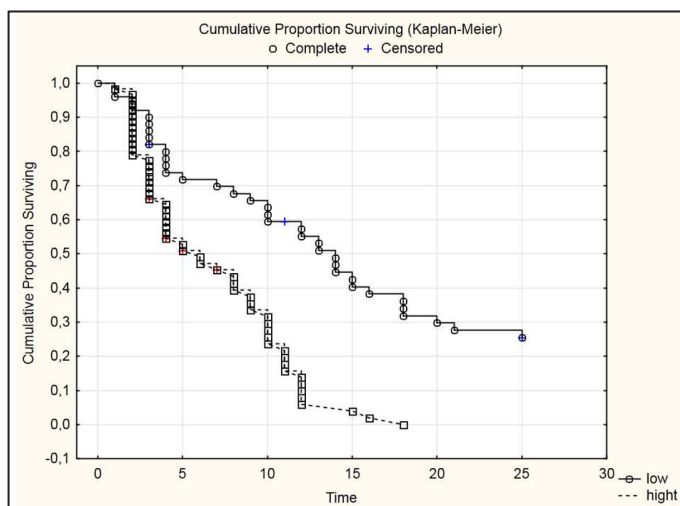


Рис. 2. Сравнение выживаемости мышей, зараженных сильно и слабо вирулентными штаммами *Lichtheimia* spp.

При сравнении выживаемости животных, зараженных различными видами *Lichtheimia* spp., установлены достоверные различия: наибольшую вирулентность проявили штаммы *L. ramosa* в сравнении с *L. corymbifera* ($p=0,03$) и с *L. ornata* ($p=0,00001$). Штамм *L. ornata* был менее вирулентен, чем штаммы *L. corymbifera* ($p=0,03$) (Рис. 3).

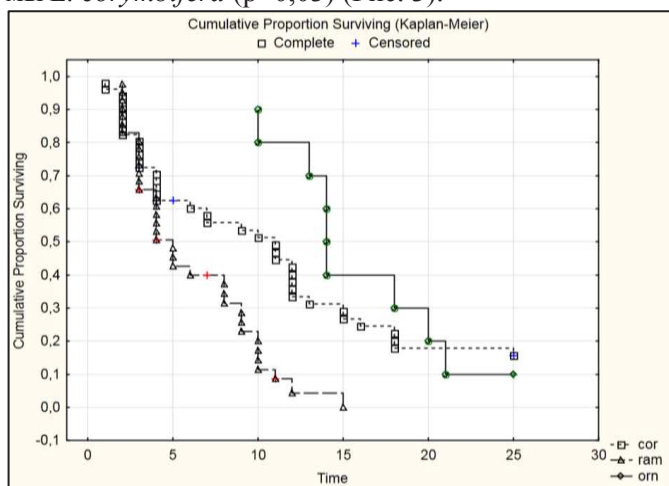


Рис. 3. Сравнение выживаемости лабораторных животных, зараженных различными видами *Lichtheimia* spp.

В результате культуральных исследований органов зараженных мышей рост *Lichtheimia* spp. был выявлен в 69,7% проб ткани легких и в 39,5% проб ткани мозга.

Вирулентность штаммов *Rhizopus* spp. Динамика гибели животных после заражения различными штаммами *Rhizopus* spp. показана на рисунке 4.

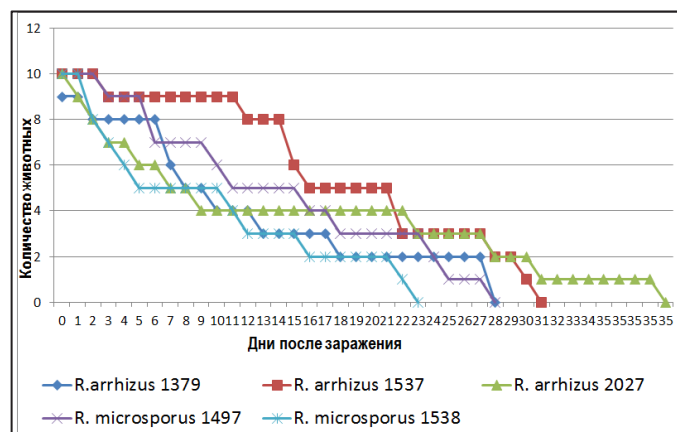


Рис. 4. Выживаемость мышей после заражения различными штаммами *Rhizopus* spp.

В группе животных, инфицированных *R. microsporus* РКПГ F1538, гибель всех мышей наблюдали на 23-й день после заражения. Через 28 дней после инфицирования погибли все животные в группах заражения *R. arrhizus* РКПГ F 1379 и *R. microsporus* РКПГ F1497. В группах мышей, инфицированных штаммами *R. arrhizus* РКПГ F1537 и *R. arrhizus* РКПГ F 2027, гибель 100% животных отмечали на 31-й и 35-й дни соответственно. Достоверных различий в вирулентности изученных штаммов не выявлено.

При сравнении кумулятивной выживаемости мышей, зараженных двумя различными видами рода *Rhizopus*, достоверных различий не обнаружено ($p=0,4$) (Рис. 5).

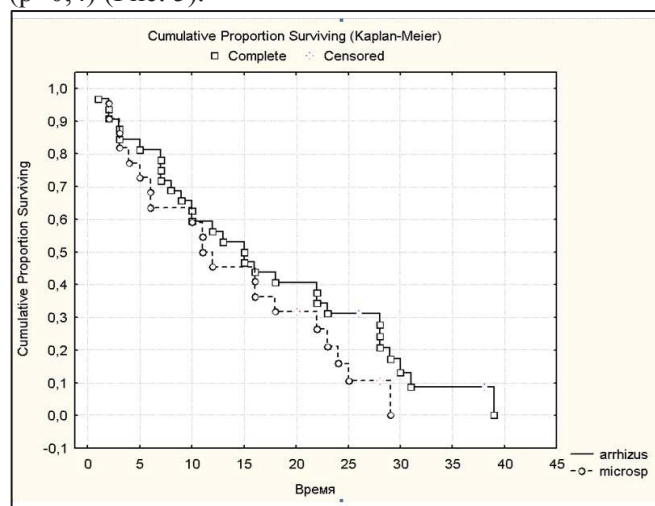


Рис. 5. Сравнение выживаемости лабораторных животных, зараженных различными видами *Rhizopus* spp.

При культуральных исследованиях органов мышей, зараженных штаммами *Rhizopus* spp., рост возбудителей был получен в 66,6% проб ткани легких и в 44,4% проб ткани мозга.

Вирулентность штаммов *Rhizomucor pusillus*. Динамика гибели мышей после заражения четырьмя штаммами *R. pusillus* показана на рисунке 6.

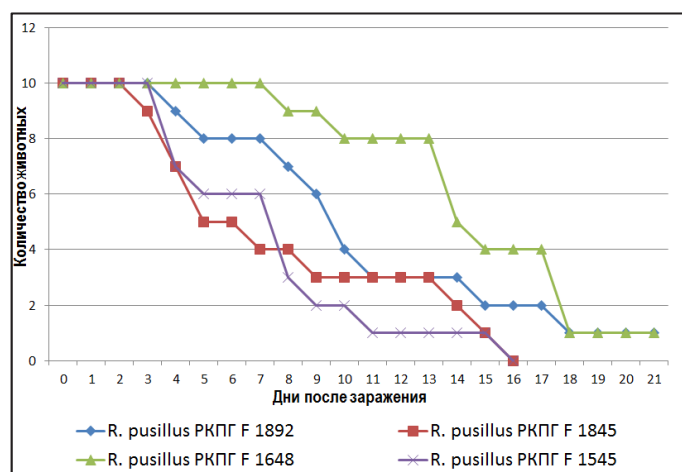


Рис. 6. Выживаемость мышей после заражения различными штаммами *Rhizomucor pusillus*.

При анализе выживаемости лабораторных животных после заражения штаммы *R. pusillus* были распределены на две группы: сильно и слабо вирулентные. К сильно вирулентным были отнесены штаммы, вызвавшие гибель 100% животных в течение 16 дней после инфицирования (*R. pusillus* РКПГ F 1845 и *R. pusillus* РКПГ F 1545). К слабо вирулентным отнесены штаммы *R. pusillus* РКПГ F 1892 и *R. pusillus* РКПГ F 1648, вызвавшие гибель не всех мышей (90%) через 21 день после заражения. Различия между группами сильно и слабо вирулентных штаммов *R. pusillus* по летальному действию на мышей статистически значимы ($p=0,01$) (Рис. 7).

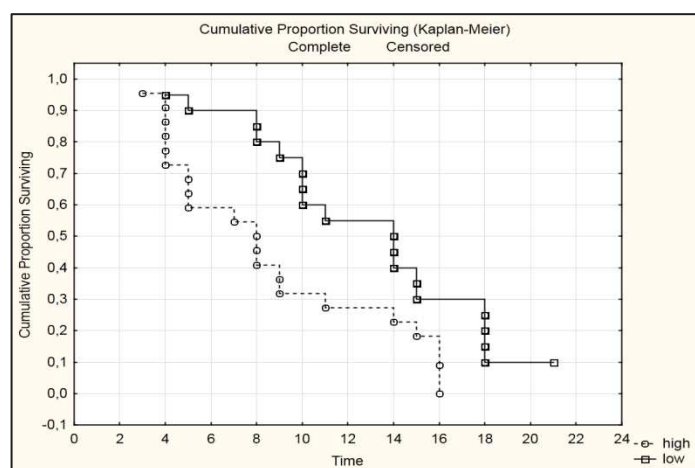


Рис. 7. Сравнение выживаемости мышей, зараженных сильно и слабо вирулентными штаммами *R. pusillus*.

При культуральных исследованиях органов мышей рост *R. pusillus* был выявлен в 29,4% проб ткани легких и 5,8% проб ткани мозга.

Сравнение выживаемости мышей после заражения в зависимости от рода мукоромицета.

При анализе выживаемости животных после инфицирования мукоромицетами трех изученных родов были выявлены межродовые различия по вирулентности (Рис. 8).

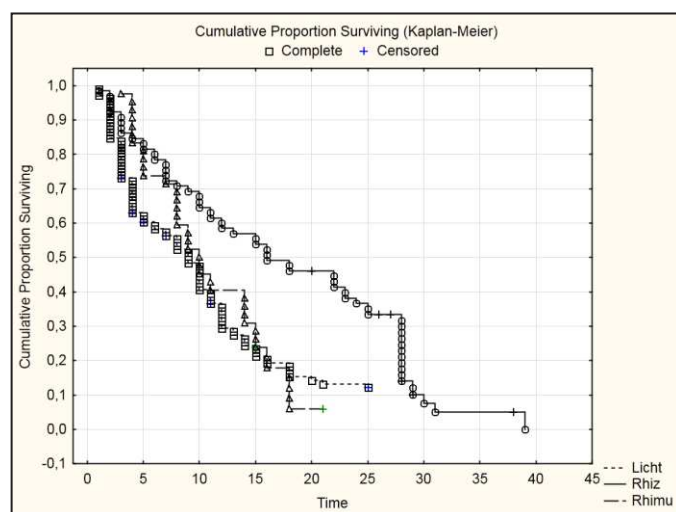


Рис. 8. Сравнение выживаемости животных после заражения тремя родами мукоромицетов (*Lichtheimia*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*).

Штаммы *R. pusillus* и *Lichtheimia* spp. не различались по летальному действию на мышей в состоянии иммуносупрессии ($p=0,08$) и были более вирулентными по сравнению с *Rhizopus* spp. ($p=0,0001$ и $p=0,01$ соответственно).

В результате проведенного экспериментального исследования вирулентности клинических изолятов возбудителей мукормикоза, выделенных от пациентов в Санкт-Петербурге, на модели интраназального заражения мышей на фоне нейтропении, обусловленной введением циклофосфана, выявлены различия по летальному действию на животных между видами и штаммами рода *Lichtheimia*, между штаммами *R. pusillus*, а также между штаммами *Rhizopus* spp. и возбудителями, относящимися к двум другим родам мукоромицетов.

Полученные нами данные о различиях в вирулентности штаммов *Lichtheimia* spp. согласуются с результатами исследований других авторов. Kitz D.J. et al. [Kitz D.J., et al. Comparative virulence of *Absidia corymbifera* strains in mice. Infection and Immunity. 1981; 33 (2): 395-400] отмечали различия в 10-16 раз между средними летальными дозами шести штаммов *L. corymbifera* при внутривенном заражении мышей.

Schwartz V.U. et al. на модели с куриными эмбрионами также наблюдали штаммовые различия в вирулентном потенциале для видов *L. corymbifera* и *L. ramosa* [4]. Schulze B. et al. на модели инвазивного мукормикоза легких при интраназальном заражении мышей на фоне иммуносупрессии, вызванной ацетатом кортизона, обнаружили различия в вирулентном потенциале индивидуальных штаммов *Lichtheimia* spp., но не выявили достоверных различий по вирулентности между видами *L. corymbifera* и *L. ramosa* [6]. В нашем исследовании было установлено, что *L. ramosa* обладает большей вирулентностью, чем *L. corymbifera*. Возможно, что различия в полученных результатах связаны с тем, что мы применяли для

иммуносупрессии животных циклофосфан, а не ацетат кортизона.

Нами обнаружены различия в летальном действии на мышей между мукоромицетами, относящимися к разным родам порядка *Mucorales*. На использованной нами модели наибольшую вирулентность проявили штаммы *R. pusillus* и *Lichtheimia* spp. по сравнению с *Rhizopus* spp. Аналогичные результаты получили Luo G. al. на модели интратрахеального заражения мышей, обработанных циклофосфаном и ацетата кортизона [5]. Отметим, что те же авторы получили другие результаты на модели интратрахеального заражения мышей с диабетическим кетоацидозом: наиболее вирулентными на этой модели оказались *Rhizopus* spp.

В доступной нам литературе мы не обнаружили исследований сравнительной вирулентности изолятов *R. pusillus*. Вероятно, это связано с относительно редкой встречаемостью этого возбудителя мукормикоза [3]. Однако при анализе данных регистра больных мукормикозом в России среди возбудителей доля *R. pusillus* составила 20% для взрослых пациентов и 25% для детей [8, 9]. В нашем исследовании мы выявили различия в вирулентном потенциале между штаммами *R. pusillus*, что позволило разделить их на

группы сильно и слабо вирулентных. Необходимы дальнейшие исследования биологических особенностей мукормицетов, связанных с патогенностью, в том числе на молекулярно-биологическом уровне.

ВЫВОДЫ

1. На модели мукормикоза легких у мышей при интраназальном заражении на фоне нейтропении, индуцированной циклофосфаном, выявлена гетерогенность возбудителей родов *Lichtheimia*, *Rhizopus* и *Rhizomucor* по патогенности. Штаммы родов *Lichtheimia* и *Rhizomucor* были более патогенны, чем представители рода *Rhizopus*.

2. Обнаружены различия по патогенности между видами рода *Lichtheimia*. Штаммы вида *L. ramosa* более патогенны, чем *L. corymbifera*.

3. Установлены штаммовые различия по вирулентности для *L. corymbifera* и *R. pusillus*.

Работа выполнена в рамках Государственного задания 056-00056-1900 «Изучение морфобиологических особенностей патогенных мукоромицетов – возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитами».

ЛИТЕРАТУРА

1. *Skiada A., Pavleas I., Drogari-Apiranthitou M.* Epidemiology and diagnosis of mucormycosis: an update. *J. Fungi*, 2020; 6: 265-284. doi.org/10.3390/jof6040265
2. *Bhatia M.* The rise of mucormycosis in COVID-19 patients in India. Expert review of anti-infective therapy. 2021. Ahead-of-print, 1-2. doi.org/10.1080/14787210.2021.1960822
3. *Jeong W., Keoghley C., Wolfe R., et al.* The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019; 25: 26-34. doi.org/10.1016/j.cmi.2018.07.011
4. *Schwartz V.U., Hoffmann K., Nyilasi I., et al.* *Lichtheimia* species exhibit differences in virulence potential. *PLoS ONE*, 2012 7(7):e40908. doi.org/10.1371/journal.pone.0040908
5. *Luo G., Gebremariam T., Lee H., et al.* Efficacy of liposomal amphotericin B and posaconazole in intratracheal models of murine mucormycosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013; 57 (7): 3340-3347. doi.org/10.1128/AAC.00313-13
6. *Schulze B., Rambach G., Schwartz V.U., et al.* Ketoacidosis alone does not predispose to mucormycosis by *Lichtheimia* in a murine pulmonary infection model. *Virulence*. 2017; 8 (8): 1657-1667. doi.org/10.1080/21505594.2017.1360460
7. *Васильева Н.В., Босак И.А., Богомолова Т.С. и др.* Экспериментальная модель мукормикоза легких, обусловленного *Lichtheimia ornata*. Проблемы медицинской микологии. 2019; 21 (1): 3-6. [Vasilyeva N.V., Bosak I.A., Bogomolova T.S., et al. Experimental model of pulmonary mucormycosis caused by *Lichtheimia ornata*. *Problems in medical mycology*. 2019; 21 (1): 3-6 (In Russ)].
8. *Хостелиди С.Н., Шадринова 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 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
9. *Хостелиди С.Н., Борзова Ю.В., Волкова А.Г. и др.* Мукормикоз у детей: результаты проспективного исследования в Санкт-Петербурге. Проблемы медицинской микологии. 2019; 21 (1): 7-10. [Khostelidi S.N., Borzova U.V., Volkova A.G., et al. Mucormycosis in children: results of prospective study in Saint-Petersburg, Russia. *Problems in medical mycology*. 2019; 21 (1): 7-10 (In Russ)].

Поступила в редакцию журнала 21.12.2021

Рецензент: С.М. Игнатьева

ПРОФИЛИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ МУ- КОРОМИЦЕТОВ К ПРОТИВОГРИБ- КОВЫМ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕД- СТВАМ *IN VITRO*

¹Выборнова И.В. (н.с.), ¹Ковыршин С.В. (студент, лаборант-исследователь), ¹Босак И.А. (с.н.с.), ¹Павлова И.Э. (н.с.), ^{1,2}Богомолова Т.С. (зав. лаб., доцент)*, ³Хостелиди С.Н. (доцент), ¹Чилина Г.А. (зав. лаб.), ⁴Пинегина О.Н. (биолог отделения клинической микробиологии), ^{1,2}Васильева Н.В. (директор института, зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова: ¹НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; ²кафедра медицинской микробиологии; ³кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии; ⁴Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

В статье приведены результаты определения чувствительности к амфотерицину В и позаконазолу in vitro 31 штамма мукодомицетов, выделенных от пациентов с мукодомицетозом. Установлено, что минимальные подавляющие концентрации амфотерицина В были значительно выше для штаммов Rhizopus spp. и Rhizomucor pusillus в сравнении с изолятами Lichtheimia spp. (p=0,00001 и p=0,0001 соответственно).

Ключевые слова: мукодомицетоз, мукодомицеты, чувствительность, амфотерицин В, позаконазол

IN VITRO ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY PROFILES OF CLINICAL MUCORALEAN ISOLATES

¹Vybornova I.V. (scientific researcher), ¹Kovyrshin S.V. (student, laboratory assistant), ¹Bosak I.A. (senior scientific researcher), ¹Pavlova I.E. (scientific researcher), ^{1,2}Bogomolova T.S. (head of the laboratory, associate professor), ³Khostelidi S.N. (associate professor), ¹Chilina G.A. (head of the laboratory), ⁴Pinegina O.N. (biologist of the clinical microbiology department), ^{1,2}Vasilyeva N.V. (director of the Institute, head of the department)

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov: ¹Kashkin Research Institute of Medical Mycology; ²Department of Medical Microbiology; ³Department of Clinical

Mycology, Allergy and Immunology; ⁴Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

The article presents results of antifungal susceptibility testing to amphotericin B and posaconazole of 31 clinical isolates obtained from patients with mucormycosis. Minimum inhibitory concentrations of amphotericin B were significantly higher against Rhizopus spp. and Rhizomucor pusillus isolates in comparison to Lichtheimia spp. (p=0,00001 и p=0,0001, correspondingly).

Key words: mucormycosis, mucoromycetes, susceptibility, amphotericin B, posaconazole

ВВЕДЕНИЕ

Мукодомицетоз – инфекция, вызываемая условно-патогенными низшими мицелиальными грибами, относящимися к порядку *Mucorales* подотдела *Mucoromycotina* отдела *Mucoromycota* [1, 2]. Мукодомицетоз, как правило, развивается у пациентов на фоне иммунодефицита при тяжелых онкогематологических и онкологических заболеваниях, длительном приеме глюкокортикостероидов и некомпенсированном сахарном диабете [3]. Наиболее частыми клиническими формами этого заболевания являются рино-орбито-церебральный мукодомицетоз и мукодомицетоз легких; реже встречаются абдоминальный, кожный и подкожный мукодомицетоз, а также поражения других локализаций [4, 5].

Однако в эру пандемии SARS-CoV-2 участились сообщения о случаях мукодомицетоза в стационарах, в особенности в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Практика наблюдений за эпидемиологией мукодомицетоза в современных условиях показала, что возможны региональные вспышки этого микоза, как это было видно на примере Индии [6].

В качестве противогрибковых лекарственных средств (ПГЛС) для лечения больных мукодомицетозом рекомендовано применять липосомальный амфотерицин В, липидный комплекс амфотерицина В, позаконазол и изавуконазол, однако летальность при этом заболевании высокая и составляет 20%-80% [7, 8]. Неблагоприятный прогноз связан как с выраженной иммуносупрессией у больных, так и с низкой чувствительностью мукодомицетов к большинству применяемых антимикотиков. Возбудители мукодомицетоза являются полирезистентными патогенами, *in vitro* чувствительны к амфотерицину В и позаконазолу, устойчивы к эхинокандинам и вориконазолу. Сведения о чувствительности различных видов мукодомицетов к ПГЛС немногочисленны, а в отношении изолятов, выделенных в России, отсутствуют. Клинически значимые пороговые значения минимальных подавляющих концентраций (МПК) антимикотиков в отношении мукодомицетов еще не разработаны международными комитетами (CLSI и EUCAST). Накопление данных о чувствительности возбудителей мукодомицетоза, изолированных в различных регионах мира, к антимикотическим препа-

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

ратам *in vitro* вносит вклад в разработку клинически значимых критериев чувствительности и резистентности для этих грибов.

Цель работы: охарактеризовать штаммы мукодомицетов, выделенные от больных, по чувствительности *in vitro* к двум противогрибковым препаратам – позаконазолу и амфотерицину В.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы мукодомицетов предоставлены Российской коллекцией патогенных грибов (РКПГ) на базе НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СЗГМУ им. И.И. Мечникова. В исследование включили 31 клинический изолят: 11 штаммов *Lichtheimia* spp. (*L. corymbifera* – 5, *L. ramosa* – 5, *L. ornata* – 1), 11 штаммов *Rhizopus* spp. (*R. arrhizus* – 9 (в том числе 1 штамм от больной мукомикозом на фоне новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2), *R. microsporus* – 2), 7 штаммов *Rhizomucor pusillus*, 2 штамма *Mucor* spp. (*M. circinelloides* – 1, *M. racemosus* – 1). Штаммы грибов были выделены в период с 2009 по 2021 гг. от пациентов в Санкт-Петербурге, за исключением двух: *R. arrhizus* РКПГ F-2140 поступил из Волгограда, *L. corymbifera* РКПГ F-1568 – из Казахстана.

Определение чувствительности мукодомицетов к ПГЛС осуществляли методом серийных микроразведений согласно документу EUCAST E.DEF 9.3.2. [9] с использованием субстанций позаконазола (Sigma-Aldrich, Германия) и амфотерицина В (US Biological Life Sciences, США), жидкой питательной среды RPMI-1640 с глутамином, без бикарбоната, с 2% глюкозы. Определение минимальной подавляющей концентрации проводили визуально. Значение МПК соответствовало минимальной концентрации препарата в лунке, где отсутствовал видимый рост гриба. Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программы STATISTICA for Windows с использованием критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Чувствительность изученных мукодомицетов к ПГЛС. Результаты определения чувствительности штаммов мукодомицетов к амфотерицину В и позаконазолу приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Происхождение изученных штаммов мукодомицетов и их чувствительность к амфотерицину В и позаконазолу *in vitro*

| № п/п | Штамм | Год выделения (поступления) | Локализация поражения / биоматериал | МПК (мг/л) | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|---------------|-------------|
| | | | | амфотерицин В | позаконазол |
| Род <i>Lichtheimia</i> Vuill. | | | | | |
| 1 | <i>L. corymbifera</i> РКПГ F-1493 | 2012 | Верхнечелюстная пазуха | 0,125 | 0,25 |
| 2 | <i>L. corymbifera</i> РКПГ F-1568 | 2013 | Верхнечелюстная пазуха | 0,5 | 0,25 |
| 3 | <i>L. corymbifera</i> | 2013 | Верхнечелюст- | 0,5 | 0,5 |

| | | | | | |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------|------|------------------------|-------|-------|
| | РКПГ F-1601 | | ная пазуха | | |
| 4 | <i>L. corymbifera</i> РКПГ F-1837 | 2017 | Ткань лёгкого | 0,06 | 0,06 |
| 5 | <i>L. corymbifera</i> РКПГ F-2020 | 2019 | Верхнечелюстная пазуха | 0,03 | 0,06 |
| 6 | <i>L. ornata</i> РКПГ F-1507 | 2012 | Верхнечелюстная пазуха | 0,25 | 0,06 |
| 7 | <i>L. ramosa</i> РКПГ F-1456 | 2011 | БАЛ | 0,5 | 0,25 |
| 8 | <i>L. ramosa</i> РКПГ F-1969 | 2019 | БАЛ | 0,06 | 0,03 |
| 9 | <i>L. ramosa</i> РКПГ F-2007 | 2019 | БАЛ | 0,125 | 0,03 |
| 10 | <i>L. ramosa</i> РКПГ F-2019 | 2018 | Ткань нёба | 0,06 | 0,03 |
| 11 | <i>L. ramosa</i> РКПГ F-2150 | 2021 | Верхнечелюстная пазуха | 0,5 | 0,25 |
| Род <i>Mucor</i> Fresen. | | | | | |
| 12 | <i>M. circinelloides</i> РКПГ F-2008 | 2019 | Ткань лёгкого | 0,5 | 0,25 |
| 13 | <i>M. racemosus</i> РКПГ F-1435 | 2011 | Ткань пищевода | 0,25 | 0,125 |
| Род <i>Rhizomucor</i> Lucet & Costantin | | | | | |
| 14 | <i>R. pusillus</i> РКПГ F-1341 | 2009 | Мокрота | 1 | 0,06 |
| 15 | <i>R. pusillus</i> РКПГ F-1536 | 2012 | Мокрота | 4 | 0,06 |
| 16 | <i>R. pusillus</i> РКПГ F-1508 | 2012 | БАЛ | 1 | 0,06 |
| 17 | <i>R. pusillus</i> РКПГ F-1545 | 2013 | Ткань лёгкого | 4 | 0,06 |
| 18 | <i>R. pusillus</i> РКПГ F-1648 | 2014 | БАЛ | 4 | 0,125 |
| 19 | <i>R. pusillus</i> РКПГ F-1845 | 2017 | БАЛ | 1 | 0,125 |
| 20 | <i>R. pusillus</i> РКПГ F-1892 | 2018 | БАЛ | 4 | 0,06 |
| Род <i>Rhizopus</i> Ehrenb. | | | | | |
| 21 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-1379 | 2009 | Раневое отделяемое | 1 | 0,125 |
| 22 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-1537 | 2012 | БАЛ | 2 | 0,5 |
| 23 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-1816 | 2017 | БАЛ | 2 | 0,5 |
| 24 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-1971 | 2019 | БАЛ | 4 | 0,5 |
| 25 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-2027 | 2019 | БАЛ | 2 | 0,5 |
| 26 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-2053 | 2020 | Верхнечелюстная пазуха | 4 | 0,5 |
| 27 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-2054 | 2020 | Раневое отделяемое | 1 | 0,125 |
| 28 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-2074 | 2020 | БАЛ | 2 | 0,125 |
| 29 | <i>R. arrhizus</i> РКПГ F-2140* | 2021 | Верхнечелюстная пазуха | 4 | 0,25 |
| 30 | <i>R. microsporus</i> РКПГ F-1497 | 2012 | Мокрота | 1 | 0,25 |
| 31 | <i>R. microsporus</i> РКПГ F-1538 | 2012 | Стенка кишечника | 1 | 0,5 |

Примечание: * - штамм выделен от больной COVID-19; БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж.

МПК позаконазола (мг/л) составили 0,03-0,5 в отношении *Lichtheimia* spp., 0,125-0,25 – для *Rhizopus* spp., 0,06-0,125 – для *Rhizomucor pusillus*, 0,125-0,25 – для *Mucor* spp. Достоверных различий по чувствительности к позаконазолу между видами мукодомицетов не обнаружено.

МПК амфотерицина В (мг/л) составили 0,03-0,5 в отношении *Lichtheimia* spp., 1- 4 – для *Rhizopus*

spp. и *Rhizomucor pusillus*, 0,25-0,5 – для *Mucor* spp. МПК амфотерицина В были значительно выше для штаммов *Rhizopus* spp. и *Rhizomucor pusillus* в сравнении с изолятами *Lichtheimia* spp. ($p=0,00001$ и $p=0,0001$ соответственно). Распределение штаммов в зависимости от МПК амфотерицина В и позаконазола для родов *Lichtheimia*, *Rhizopus* и *Rhizomucor* показано на рисунке 1.

Таблица 2

Распределение клинических изолятов мукодомицетов по чувствительности к амфотерицину В и позаконазолу *in vitro*

| Вид гриба (количество штаммов) | Препарат | МПК (мг/л)/количество штаммов | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------|-------------------------------|------|------|-------|------|-----|---|---|---|---|----|
| | | 0,015 | 0,03 | 0,06 | 0,125 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 |
| <i>L. corymbifera</i> (5) | амфотерицин В | - | 1 | 1 | 1 | - | 2 | - | - | - | - | - |
| | позаконазол | - | - | 2 | - | 2 | 1 | - | - | - | - | - |
| <i>L. ramosa</i> (5) | амфотерицин В | - | - | 2 | 1 | - | 2 | - | - | - | - | - |
| | позаконазол | - | 3 | - | - | 2 | - | - | - | - | - | - |
| <i>L. ornata</i> (1) | амфотерицин В | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | позаконазол | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>R. pusillus</i> (7) | амфотерицин В | - | - | - | - | - | - | 3 | - | 4 | - | - |
| | позаконазол | - | - | 5 | 2 | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>R. arrhizus</i> (9) | амфотерицин В | - | - | - | - | - | - | 2 | 4 | 3 | - | - |
| | позаконазол | - | - | - | 3 | 1 | 5 | - | - | - | - | - |
| <i>R. microsporus</i> (2) | амфотерицин В | - | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - |
| | позаконазол | - | - | - | - | 1 | 1 | - | - | - | - | - |
| <i>M. circinelloides</i> (1) | амфотерицин В | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - |
| | позаконазол | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| <i>M. racemosus</i> (1) | амфотерицин В | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| | позаконазол | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - |

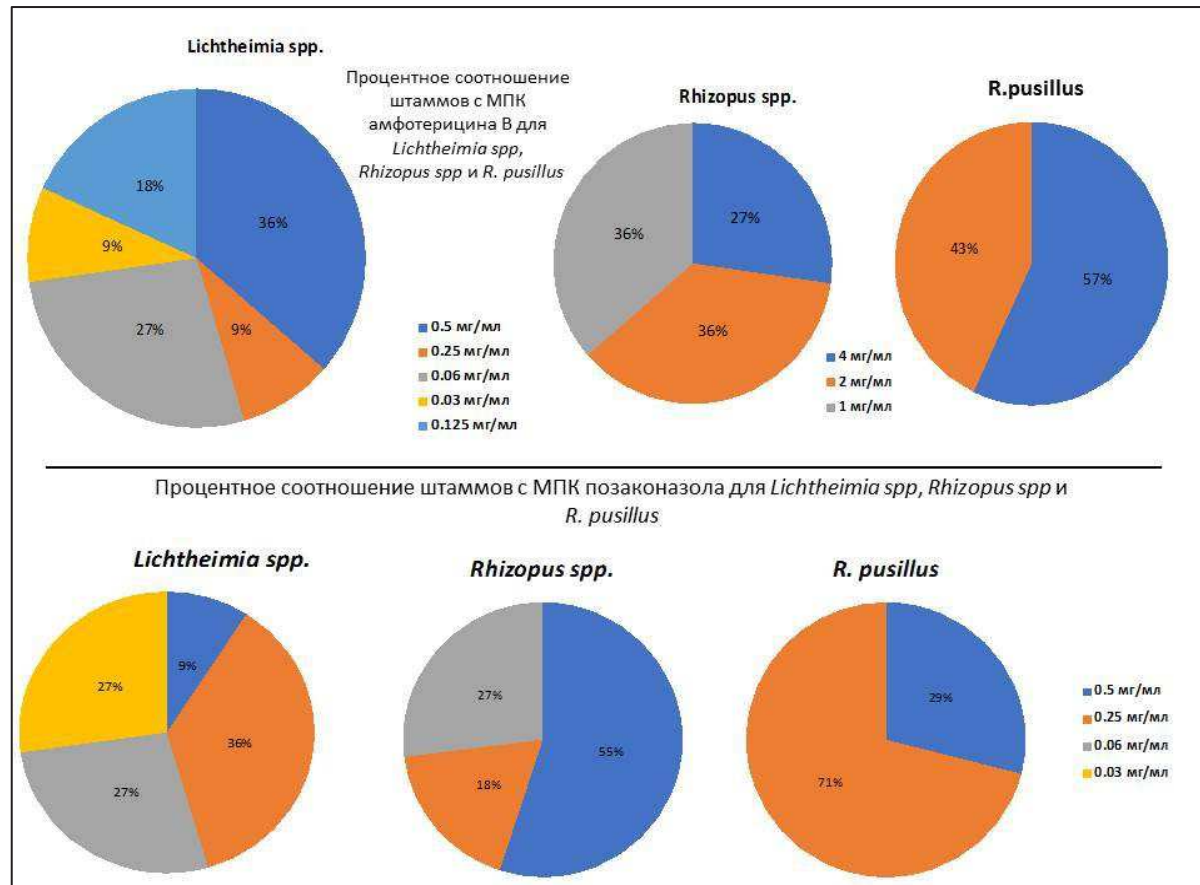


Рис. 1. Распределение штаммов мукодомицетов в зависимости от величин МПК амфотерицина В и позаконазола.

Мы определили значения МПК амфотерицина В и позаконазола для 31 клинического штамма мукокомицетов, выделенных от больных в России. В международном многоцентровом исследовании, проведенном Espinel-Ingroff A. et al., была изучена чувствительность к трем ПГЛС 136 штаммов *L. corymbifera*, 257 штаммов *R. arrhizus*, 146 штаммов *R. microsporus*, 33 штаммов *R. pusillus*, 123 штаммов *M. circinelloides* [10]. Авторы использовали метод определения чувствительности мицелиальных грибов к ПГЛС, изложенный в документе CLSI M38A-2 [11]. Диапазоны выявленных в многоцентровом исследовании значений МПК амфотерицина В (мг/л) составили: для *L. corymbifera* – 0,06-16; для *R. arrhizus* – 0,03-4; для *R. microsporus* – 0,06-4; для *R. pusillus* – 0,06-8; для *M. circinelloides* – 0,03-1. Диапазоны значений МПК позаконазола (мг/л) в этом исследовании составили: для *L. corymbifera* – 0,06-4; для *R. arrhizus* – 0,03-32; для *R. microsporus* – 0,06-16; для *R. pusillus* – 0,06-2; для *M. circinelloides* – 0,06-16.

В исследовании, проведенном в США, с помощью протокола CLSI M38A-2 были изучены профили чувствительности к ПГЛС 942 штаммов мукокомицетов, выделенных в период с 2015 по 2019 г. Авторы выявили различия между родами возбудителей мукокомицетоза по чувствительности к азолам и амфотерицину В [12].

Borman A.M. et al. представили результаты определения по протоколу CLSI M38A-2 МПК амфотерицина В, позаконазола, изавуконазола, итраконазола и вориконазола для 365 клинических изолятов грибов из порядка *Mucorales*, поступивших в Национальную микологическую референтную лабораторию Великобритании в период с 2006 по 2020 гг. В этом исследовании обнаружена видоспецифическая зависимость в чувствительности мукокомицетов к изавуконазолу и позаконазолу [13].

Espinel-Ingroff A. et al. предложили значения «эпидемиологических точек отсечения» (англ. epidemiological cut-off values, ECOFF) для амфотерицина В, позаконазола и некоторых видов мукокомицетов. В отношении *L. corymbifera* значения ECOFF амфотерицина В и позаконазола составили 1 мг/л.

Для *R. arrhizus* ECOFF амфотерицина В составила 2 мг/мл, позаконазола – 1 мг/л; для *Rh. microsporus* – 2 мг/л и 1 мг/л; для *M. circinelloides* – 1 мг/л и 4 мг/л соответственно [10].

В работе Rivero-Menendez O. et al. отмечено, что значения МПК амфотерицина В и позаконазола в отношении мукокомицетов, выявленные методами, рекомендованными EUCAST и CLSI, существенно не различаются [14]. Анализ полученных нами результатов определения чувствительности клинических изолятов мукокомицетов *in vitro* показал, что у трех штаммов *R. arrhizus* (РКПГ F-1971, РКПГ F-2053 и РКПГ F-2140) установленные МПК амфотерицина В (4 мг/л) превышают значение ECOFF, предложенное Espinel-Ingroff A. et al. [10], что позволяет предположить снижение чувствительности к этому ПГЛС.

Таким образом, необходимо проводить мониторинг чувствительности возбудителей мукокомицетоза к антимикотическим препаратам в РФ, выявлять возможные механизмы резистентности этих грибов на молекулярно-генетическом уровне и на основе полученных результатов разработать клинические рекомендации по определению чувствительности этих грибов к ПГЛС.

ВЫВОДЫ

1. Минимальные подавляющие концентрации амфотерицина В значительно выше для изученных штаммов *Rhizopus* spp. и *Rhizomucor pusillus* в сравнении с изолятами *Lichtheimia* spp. ($p=0,00001$ и $p=0,0001$ соответственно).

2. Среди штаммов *R. arrhizus*, выделенных в России, встречаются изоляты, МПК амфотерицина В для которых превышает значение ECOFF, что позволяет предположить снижение чувствительности к этому противогрибковому препарату.

Работа выполнена в рамках Государственного задания 056-00056-1900 «Изучение морфобиологических особенностей патогенных мукокомицетов – возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитами» (2019- 2021 гг.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Spatafora J.W., Chang Y., Benny G.L., et al. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*. 2016; 108 (5): 1028-1046. doi: 10.3852/16-042
2. Walther G., Wagner L., Kurzai O. Updates on the taxonomy of *Mucorales* with an emphasis on clinically important taxa. *J. Fungi*. 2019; 5 (4): 106. doi:10.3390/jof5040106
3. Хостелиди С.Н., Шадринова О.В., Борзова Ю.В. и др. Клинико-лабораторные особенности мукокомицетоза 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 in Medical Mycology*. 2020; 22 (2): 22-28 (in Russ)]. doi:10.24412/1999-6780-2020-2-22-28
4. Jeong W., Keoghley C., Wolfe R., et al. The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019; 25: 26-34. doi.org/10.1016/j.cmi.2018.07.011

5. *Skiada A., Pavleas I., Drogari-Apiranthitou M.* Epidemiology and diagnosis of mucormycosis: an update. *J. Fungi.* 2020; 6: 265-284. doi.org/10.3390/jof6040265
6. *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
7. *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. reprint. and additional M.: Farmtek, 2017; 272 p. (In Russ)].
8. *Cornely O.A., Alastruey-Izquierdo A., Arenz D., et al.* Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19 (12): e405-e421. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30312-3
9. *Arendrup M.C., Meletiadis J., Mouton W., et al.* and the Subcommittee of Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). EUCAST Definitive Document E. DEF 9.3.2. April 2020. Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia forming moulds: https://www.eucast.org/astoffungi/methodsinantifungalsusceptibilitytesting/ast_of_moulds/
10. *Espinel-Ingroff A., Chakrabarti A., Chowdhary A., et al.* A multicenter evaluation of MIC distribution for ECV definition to detect amphotericin B, posaconazole and itraconazole resistance among the most clinically relevant species of Mucorales. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015; 59 (3): 1745-50. doi: 10.1128/AAC.04435-14
11. *Clinical and Laboratory Standards Institute.* 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, 3rd ed. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Villanova, PA.
12. *Badali H., Gibas C., McCarthy D., et al.* Susceptibility profile of *Mucoralean* fungi isolated from the United States to current antifungal drugs. Abstract Book “9th Advances against aspergillosis and mucormycosis”. 2020: 76-77. www.AAAM2020.org.
13. *Borman A.M., Frazer M., Patterson Z., et al.* *In vitro* antifungal drug resistance profiles of clinically relevant members of the *Mucorales* (*Mucoromycota*) especially with the newer triazoles. *J. Fungi.* 2021; 7: 271. doi: 10.3390/jof7040271
14. *Rivero-Menendez O., Cuenca-Estrella M., Alastruey-Izquierdo A.* *In vitro* activity of APX001A against rare moulds using EUCAST and CLSI methodologies. *J. Antimicrob. Chemother.* 2019; 74: 1295-1299. doi.org/10.1093/jac/dkz022

Поступила в редакцию журнала 20.01.2022

Рецензент: Н.Н. Климко

УДК 582.281.21:621.384.8
DOI: 10.24412/1999-6780-2021-4-44-50

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕ- ЛЕЙ МУКОРМИКОЗА

^{1,2}Рябинин И.А. (м.н.с., ассистент кафедры)*,
¹Ковыршин С.В. (студент, лаборант-
исследователь), ^{1,2}Васильева Н.В. (директор
института, зав. кафедрой)

Северо-Западный государственный медицинский универ-
ситет им. И.И. Мечникова: ¹НИИ медицинской микологии
им. П.Н. Кашкина; ²кафедра медицинской микробиологии,
Санкт-Петербург, Россия

Работа посвящена исследованию клеточной био-
массы и белково-пептидного экстракта мукоормицетов
методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии культуры с
целью совершенствования видовой идентификации этих
грибов. Изучены 36 штаммов, относящихся к *Lichtheimia*
corymbifera, *L. ornata*, *L. ramosa*, *Mucor circinelloides*, *M.*
racemosus, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus arrhizus* (*oryzae*),
Rhizopus microsporus, *Absidia caerulea*, *Cunninghamella*
echinulata и *Syncephalastrum racemosum*. Для масс-
спектрометрической съемки культуры подготовлены
два метода, которые включают получение колоний
на жидкой питательной среде в различных условиях с
последующим выделением экстракта (метод 1) или кис-
лотным травлением биомассы на мишени масс-
спектрометра (метод 2). Предложен оригинальный при-
ем съемки типовых MALDI-масс-спектров высокой сум-
мации. Описаны особенности композиции масс-спектров
представителей различных таксономических групп.

Создана оригинальная «библиотека», включающая
49 типовых масс-спектро-профилей для всех изученных
видов мукоормицетов, предназначенная для совершен-
ствования идентификации этих грибов с помощью
MALDI-TOF-масс-спектрометрии.

Ключевые слова: «библиотека» масс-спектро-
профилей, видовой идентификация, мукоормикоз, MALDI-
TOF-масс-спектрометрия, *Mucoromycotina*

MASS SPECTROMETRIC CHARAC- TERISTIC OF MUCORMYCOSIS CAUSATIVE AGENTS

^{1,2}Ryabinin I.A. (scientific researcher, assistant
of the department), ¹Kovyrshin S.V. (student,
laboratory assistant), ^{1,2}Vasilyeva N.V. (director
of the Institute, head of the department)

North-Western State Medical University named after I.I.
Mekhnikov: ¹Kashkin Research Institute of Medical Mycology;
²Department of Medical Microbiology, St. Petersburg, Russia

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

The study is devoted to investigation of cell biomass and
protein extract of mucoromycetes by MALDI-TOF-mass-
spectrometry from the culture in order to improve the species
identification of these fungi. 36 strains belonging to
Lichtheimia corymbifera, *L. ornata*, *L. ramosa*, *Mucor cir-
cinelloides*, *M. racemosus*, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus*
arrhizus (*oryzae*), *Rhizopus microsporus*, *Absidia caerulea*,
Cunninghamella echinulate and *Syncephalastrum race-
mosum* were studied. Cultures were prepared by 2 methods,
which include obtaining colonies on liquid nutrient medium
under various conditions, followed by isolation of the extract
(method 1) or acid etching of the biomass on the mass-
spectrometer target (method 2). An original technique for
recording typical MALDI-mass-spectra of high summation is
proposed. The features of the composition of mass-spectra of
representatives of various taxonomic groups are described.

An original «library», including 49 typical main spec-
tral profiles for all studied species of mucoromycetes, de-
signed to improve the identification of these fungi using
MALDI-TOF mass-spectrometry, was created.

Key words: «library» of main spectral profiles, species
identification, mucormycosis, MALDI-TOF-mass spectrome-
try, *Mucoromycotina*

ВВЕДЕНИЕ

Линейная матрично-активированная лазерная
ионизационно/десорбционная времяпролетная масс-
спектрометрия (MALDI-TOF-MS) клеточной био-
массы или клеточного экстракта микроорганизмов –
хорошо зарекомендовавший себя эффективный
подход к видовой идентификации бактерий и мик-
роскопических грибов. Возможность identifica-
ции бактерий этим методом была показана еще в
1990-е годы XX в., а в 2001 г. Amiri-Elias B. и
Fenselau C. сообщили об опыте получения клеточ-
ного лизата из *Saccharomyces cerevisiae* с помощью
муравьиной кислоты и его белково-пептидной ком-
позиции, которую исследовали методом MALDI-
TOF-масс-спектрометрии [Amiri-Elias B., Fenselau
C. Anal. Chem. 2001; 73 (21): 5228-31]. Также эти
авторы указали на различия композиции масс-
спектров подобных простых экстрактов, получае-
мых из дрожжей разных видов, и высказали идею о
возможности использования такого подхода для
видовой идентификации микромицетов. Данная ра-
бота, по-видимому, является одной из наиболее
ранних в сфере внедрения MALDI-TOF-MS в меди-
цинскую микологию, поскольку сообщения, опубли-
кованные до этого, в основном касались вопросов
биохимии грибов, изучения свойств отдельных бел-
ков, то есть имели в большей степени фундамен-
тальный характер.

Трудно определить причины, вследствие кото-
рых MALDI-идентификация грибов развивалась
сравнительно медленно: почти в то же время, что и
ранее названное сообщение, в свет вышли работы
по использованию MALDI-TOF-MS для исследова-
ния протеома *S. cerevisiae*, разделённого методом

двумерного гель-электрофореза (значительно более сложная процедура!) [Wildgruber R., et al. Proteomics. 2002; 2 (6): 727-32], а в бактериологию уже внедряли метод PCR-MALDI как альтернативу классическому таргетному ДНК-секвенированию [von Wintzingerode F., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2002; 99 (10): 7039-44].

В 2000-2005 гг. также появились первые сообщения о получении характеристических MALDI-масс-спектров у мицелиальных грибов: *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Trichophyton rubrum*, *Scytalidium (Neoscytalidium) dimidiatum* [Welham K.J., et al. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2000; 14 (5): 307-10; Li T.Y., Liu B.H., Chen Y.C. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2000; 14 (24): 2393-400; Chen H.Y., Chen Y.C. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2005; 19 (23): 3564-8]. В этих работах использовали споры грибов, впоследствии от такого материала стали отказываться по причине сравнительно слабой детализации получаемых масс-спектров и невысокой дискриминационной способности метода. Необычный опыт представлен Valentine N.B. и соавторами [Valentine N.B., et al. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2002; 16 (14): 1352-7], где в числе разных методов пробоподготовки они использовали двустороннюю липкую ленту, на которой получали отпечаток материала колонии и монтировали его затем на мишень масс-спектрометра. Такой подход опробован ими для *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae (arrhizus)*, *Trichoderma reesei* и *Phanerochaete (Phanerodontia) chrysosporium*.

В результате развития данного направления в конце первого десятилетия XXI в. появились сообщения об успешном применении MALDI-TOF-MS с целью видовой идентификации мицелиальных грибов. Ранние исследования посвящены идентификации дерматомицетов [Erhard M., et al. Exp. Dermatol. 2008; 17 (4): 356-61], а также представителей родов *Aspergillus* и *Penicillium* [Hettick J.M., et al. Anal Biochem. 2008; 380 (2): 276-81; Hettick J.M., et al. Rapid. Commun. Mass. Spectrom. 2008; 22 (16): 2555-60]. Авторы этих сообщений работали с материалами колоний, которые включали и мицелий, и споры (конидии). Однако приведённые Hettick J.M. масс-спектры в сравнении с результатами современных съёмок еще были несовершенны.

В настоящее время большинство коммерчески «библиотек» масс-спектро-профилей (МСП) для идентификации микроорганизмов (например, SAR-AMIS, Andromas, MALDI Biotyper, Bacto-SCREEN) содержат в своем составе большое количество записей по дрожжевым грибам, что позволяет проводить определение практически всех медицински значимых представителей этой группы с надежностью, приближающейся к таргетному ДНК-секвенированию. В стандартных «библиотеках» МСП мицелиальных грибов обычно представлены в

небольшом разнообразии, для более эффективной работы с данной группой часто необходимо устанавливать дополнительные тематические «библиотеки» (например, Fungi Library). При их составлении и далее в практической работе используют получение взвешенных в жидкой питательной среде микроколоний-«пеллет», не содержащих споры, либо фрагментов краевого мицелия колонии, выращенной на плотной питательной среде.

Многими исследовательскими коллективами установлено, что коммерческие «библиотеки» типовых МСП, необходимые для MALDI-идентификации микроорганизмов, требуют дополнения по разделу мицелиальных грибов. Разработаны базы (библиотеки) МСП, позволяющие дифференцировать важнейших возбудителей мукормикоза человека на уровне видов и вариантов [1-3], однако в отечественной практике таковые отсутствуют.

Кроме того, в ряде исследований удалось выявить связь композиции MALDI-масс-спектра *Aspergillus* spp. и *Candida* spp. с особенностями чувствительности микромицетов к противогрибковым лекарственным средствам (ПГЛС). Как показано рядом авторов, этот феномен может проявляться как в присутствии антимикотика в питательной среде [4, 5], так и в его отсутствии [6]. Однако мукоромицеты еще не изучены в данном аспекте.

Цель работы: охарактеризовать штаммы мукоромицетов по физико-химическим свойствам, выявляемым посредством MALDI-TOF-масс-спектрометрии, для совершенствования подходов к идентификации возбудителей мукормикоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы мукоромицетов предоставлены Российской коллекцией патогенных грибов: *Lichtheimia corymbifera* РКПГ F-1493, F-1568, F-1601, F-1837, F-2020; *Lichtheimia ornata* РКПГ F-1507; *Lichtheimia ramosa* РКПГ F-1456, F-1969, F-2007, F-2019, F-2150; *Mucor circinelloides* РКПГ F-1977*, F-2008; *Mucor racemosus* РКПГ F-1435, F-35*; *Rhizomucor pusillus* РКПГ F-1341, F-1536, F-1508, F-1545, F-1648, F-1845, F-1892; *Rhizopus oryzae* РКПГ F-1379, F-1537, F-1816, F-1971, F-2027, F-2053, F-2054, F-2074, F-2140; *Rhizopus microsporus* РКПГ F-1497, F-1538; *Absidia coerulea* РКПГ F-63*; *Cunninghamella echinulata* РКПГ F-178; *Syncephalastrum racemosum* РКПГ F-1380. Штаммы, отмеченные знаком «*», были выделены из объектов внешней среды. Видовая идентификация штаммов выполнена путем таргетного ДНК-секвенирования локуса внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) согласно международному протоколу CLSI MM18-2nd Ed. Данные любезно предоставлены НИЛ молекулярно-генетической микробиологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина.

Подготовка культур к MALDI-TOF-масс-спектрометрии.

Штаммы мукоромицетов предварительно выращивали на скошенном картофельно-глюкозно-дрожжевом агаре при 25 °С 10 суток.

Далее пробоподготовку к масс-спектрометрическому выполняли по двум протоколам. *Первый метод* (пробный): культуры пересекали в биологические пробирки на 5 мл среды Сабуро в модификации Эммонса, инкубировали при 28 °С 4 суток.

Затем первый «урожай» биомассы снимали для экстракции белков и пептидов, еще через 3 суток получали новый материал, который также подвергали экстракции. Получение и подготовку экстрактов для MALDI-TOF-масс-спектрометрии провели, как описано ранее [8]. Таким методом обрабатывали культуры штаммов: *A. caerulea* РКПГ F-63; *C. echinulata* РКПГ F-178; *L. ramosa* РКПГ F-1456; *M. racemosus* РКПГ F-35; *R. pusillus* РКПГ F-1341; *R. microsporus* РКПГ F-1497; *R. arrhizus* РКПГ F-1048; *S. racemosum* РКПГ F-1380. После оценки эффективности пробоподготовки первым методом для всех штаммов *Lichtheimia* spp., *Mucor* spp., *R. pusillus*, *Rhizopus* spp. осуществили подготовительные манипуляции с использованием второго метода.

Второй метод заключался в следующем: культуры с плотной питательной средой пересекали в пробирки типа Эппендорф объемом 2,5 мл, наполненные на 1 мл средой Сабуро в модификации Эммонса. Такие посева закрывали стерильными ватными пробками и инкубировали при 28 °С 4 суток.

Затем из полученных культур удаляли питательную среду и обрабатывали их 70% водным этанолом в объеме 1 мл 2 ч, после чего этанол удаляли. Далее биомассу из каждой пробирки извлекали, наносили на мишень MALDI-TOF-масс-спектрометра «MTP 384 target plate polished steel BC», распределяя стерильными палочками равномерно вдоль рядов мишени так, чтобы объем биомассы, попавшей на позиции, был примерно эквивалентен. Таким образом, материал мини-колонии размещался в форме ленты. Образцы распределяли на мишени «через ряд», чтобы при экстракции жидкие продукты разных образцов не смешивались. Далее биомассу колоний протравляли 70% муравьиной кислотой и высушивали под тягой. После этого каждую «ленту» биомассы колонии с помощью микродозатора покрывали равномерно слоем MALDI-матрицы. В качестве матрицы использовали насыщенный при 25 °С раствор альфа-циано-4-гидроксициннамовой кислоты в растворителе «OS» (Bruker Daltonik GmbH, Германия). Объем раствора матрицы подбирали индивидуально для каждой пробы биомассы, чтобы покрыть ее равномерно.

Съемку MALDI-масс-спектров провели на масс-спектрометре Autoflex speed TOF/TOF с пакетом программного обеспечения flexControl v. 3.4, flex Analysis v. 3.4, MALDI Biotyper v. 3.1 с базами «Bruker Taxonomy» и «Fungi Library» (Bruker Daltonik GmbH, Германия) в режиме «MBT» с ручным управлением процессом ионизации. Полученные масс-спектры преобразовывали методом «псевдогелей» с нормализацией, для их наиболее подробной выкопировки программное окно MALDI Biotyper ОС распределили на 2 рабочих монитора. Кроме того, собранные MALDI-масс-спектры сравнивали методом построения матрицы сложного коэффициента корреляции (для всего диапазона съемки спектра в данном режиме), а также преобразовывали их в МСП и сопоставляли с типовыми МСП мукоромицетов, депонированными в библиотеке «Fungi Library», путем иерархической кластеризации (расчет дистанции по Минковскому, связь по Уорду).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности съемки MALDI-масс-спектров мукоромицетов.

При исследовании культур мукоромицетов, подготовленных первым способом, отметили, что просмотр «единичных» масс-спектров во всем диапазоне ионизации часто не позволяет понять, какие именно спектры следует суммировать при съемке образцов. Для преодоления этой проблемы применили оригинальный прием съемки: после просмотра нескольких не суммированных единичных спектров, снятых с разных точек позиции мишени, выбирали лучший и сужали область просмотра спектра до пределов пика или комплекса пиков, которые в нем видны наиболее отчетливо. После этого все последующие единичные спектры суммировали с предыдущим только на основании наличия избранного пика или комплекса пиков. Когда в результате ручной ионизации позиции мишени оператор более не мог выбрать новых точек, дающих результативный спектр, суммацию прекращали. После снятия границ искусственно установленного окна просмотра появлялся характеристический MALDI-масс-спектр, отражающий особенности исследуемой культуры. Таким способом удалось снять MALDI-масс-спектры со всех четырехсуточных культур мукоромицетов, подготовленных первым способом. Но пролонгированная инкубация (получение второго «урожае» биомассы культуры на 7-е сутки) не позволила получить удовлетворительную съемку у *Rhizopus* spp., *M. racemosus*, *R. pusillus*, *S. racemosum*. При сравнении снятых MALDI-масс-спектров мукоромицетов методом «псевдогелей» установили, что в масс-спектрах штаммов *A. caerulea*, *C. echinulata* и *L. ramosa* имелись пики, стабильно присутствующие на разных сроках инку-

бации культуры, а также и вариабельные пики, появляющиеся только на конкретном сроке инкубации (Рис. 1). Кроме того, наблюдали отдельные пики, повторяющиеся в MALDI-масс-спектрах, из культур мукокомицетов разных видов: (1) у *R. pusillus* и *S. racemosum* (2) у *R. microsporus* и *R. arrhizus*, (3) у *L. ramosa* и *A. caerulea*, (4) у *C. echinulata*, *M. racemosus*, *R. microsporus* и *R. arrhizus*, (5) у *R. pusillus*, *S. racemosum* и *C. echinulata*.

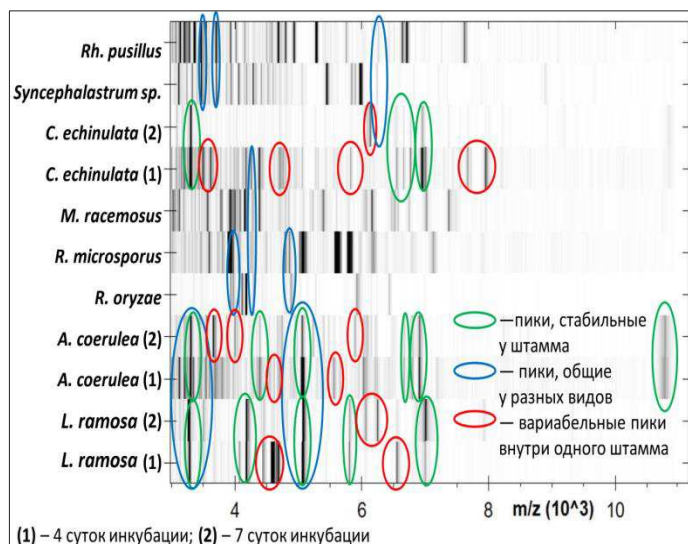


Рис. 1. Сравнительные особенности композиции MALDI-масс-спектров различных мукокомицетов, показанные методом «псевдогелей».

Как оказалось, примененный здесь альтернативный прием сбора суммарного MALDI-масс-спектра образца требует большой кратности съемки. Так, для стандартной съемки экстракта из клеток *Aspergillus* spp. или *Candida* spp., по опыту исследования этих грибов [9, 10], требуется 12-17 тыс. лазер-импульсов, а для мукокомицетов – 20-30 тыс. Поэтому для основной совокупности штаммов нами был применен второй способ пробоподготовки.

Краткая характеристика полученной базы MALDI-масс-спектров. В результате проведенной съемки удалось создать базу, включающую 2 масс-спектра *A. caerulea*, 2 – *C. echinulata*, 10 – *L. corymbifera*, 6 – *L. ramosa*, 1 – *L. ornata*, 4 – *M. circinelloides*, 2 – *M. racemosus*, 8 – *R. pusillus*, 3 – *R. microsporus*, 10 – *R. arrhizus*, 1 – *S. racemosum*. Из части изученных штаммов MALDI-масс-спектры были сняты повторно: по два – из *A. caerulea* РКПГ F-63, *C. echinulata* РКПГ F-178, *L. ramosa* РКПГ F-2150, *R. pusillus* РКПГ F-1341 и *R. microsporus* РКПГ F-1497; по три – из *L. ramosa* РКПГ F-1456, *M. circinelloides* «35-2» и *L. corymbifera* РКПГ F-2020. Масс-спектры сняты с использованием высокой суммации для того, чтобы, несмотря на сложности работы с микромицетами этой группы, полученные записи послужили для формирования типовых МСП. Для формирования одного масс-спектро-

профиля в суммарный спектр включали единичные спектры, снятые от 8100 ± 5300 лазер-импульсов (в формате $M \pm 2\sigma$). При сравнении полученных оригинальных МСП с типовыми МСП оказалось, что подавляющее большинство оригинальных МСП формируют обособленную кладу, отделяющуюся от клады МСП мукокомицетов из зарубежных коллекций на высоком уровне ветвления дендрограммы. Наблюдали также и исключения. Так, масс-спектропрофили *M. circinelloides* РКПГ F-1977 оказались включенными в общую ветвь МСП *Mucor* spp. из зарубежных коллекций, МСП *R. microsporus* РКПГ F-1497 расположились вблизи «ветви» *R. microsporus* RVA_081 VML, а МСП *R. pusillus* РКПГ F-1341 попали в «сестринскую» группу клады *R. pusillus* IBML_092 VML и IBML_024 VML. В-целом использованная стандартная «библиотека» МСП позволила идентифицировать только 2 штамма из включенной в исследование выборки – *L. corymbifera* и *M. circinelloides*, притом показатель достоверности идентификации («Score Value») оказался сравнительно невысоким, порядка 1,7 – 1,8.

Таким образом, предпринятый здесь метод получения пленчатой мини-колонии позволяет снимать MALDI-масс-спектры с несколько иной композицией, нежели методы получения взвеси микроколоний-«пеллет» или травления краевого мицелия, которые используют в зарубежной практике. Однако метод пленчатых мини-колоний более оправдан с гигиенической точки зрения, поскольку в нем минимизируется образование аэрозоля аллергенных продуктов микромицетов (как это может возникнуть в методе «пеллет») и контаминация поверхности мишени спорами микромицетов (как это происходит в методе травления краевого мицелия).

Созданная база (библиотека) масс-спектропрофилей из представителей *Mucoromycotina* получена в формате, совместимом с программным обеспечением MALDI-TOF-масс-спектрометров, что позволяет в дальнейшем использовать ее для масс-спектрометрической идентификации мукокомицетов.

В работе Dolatabadi S. и соавт. [1] создали сравнительно простую базу из 30 МСП штаммов *R. arrhizus* и *R. microsporus*, но примечательно, что с помощью этой базы удается дифференцировать трудноразличимые варианты *R. arrhizus* var. *arrhizus* (классический) и *R. arrhizus* var. *delemar* (имеет промышленное значение). Сравнительно подробная база МСП для идентификации мукокомицетов была разработана Schwarz P. и соавторами [2], она позволяет дифференцировать 12 видов и вариантов мукокомицетов, включая *L. corymbifera*, *L. ramosa*, *L. ornata*, *M. circinelloides* f. *circinelloides*, *M. indicus*, *R. miehei*, *R. pusillus*, *R. microsporus* var. *chinensis*, *R. microsporus* var. *oligosporus*, *R. arrhizus*, *S. racemosum*, *C. bertholletiae*. Данная база показала

свою эффективность в ходе практической апробации. Однако к ее особенностям следует отнести сравнительно небольшое число штаммов основных возбудителей мукормикоза, взятых для получения МСП. Некоторые авторы представили не самостоятельные базы (библиотеки) МСП, а дополнения для стандартных коммерческих баз. Так, Shao J. и соавторы [3] использовали «Fungi Library», которую дополнили МСП *M. irregularis*, *M. hiemalis*, *M. racemosus*, *C. echinulata*, *C. bertholletiae* и *C. phaeospora*.

Таким образом, сформированная нами база МСП по своему таксономическому составу соответствует уровню современных разработок в этой сфере.

Особенности композиции MALDI-масс-спектров у основных возбудителей мукормикоза определены путем сравнения нормализованных «псевдогелей» и матриц сложного коэффициента

корреляции (Рис. 2). Как оказалось, наиболее однородную группу представляют штаммы *R. pusillus*. Внутри группы с другими изолятами отчетливые различия демонстрирует только *R. pusillus* РКПГ F-1892. В составе их масс-спектра находится доминантный высокоинтенсивный пик 7,6 kDa, также «дуплет» из пиков в сегменте 6,6-6,8 kDa (в более низкомолекулярной области от него иногда заметна серия из 3-4 пиков от уровня около 6,2 kDa), а также отчетливые пики 3,2 kDa и 3,8 kDa (последний – двойной). У большинства штаммов также имеется комплекс 4,4-4,6 kDa, а также малоинтенсивный пик в диапазоне 5,2-5,4 kDa (но у *R. pusillus* РКПГ F-1341 он может быть доминантным). У атипичного штамма *R. pusillus* РКПГ F-1892 пик 7,6 kDa имеет малую интенсивность, комплекс 4,4-4,6 kDa не определяется, но есть 3 собственных комплекса близко расположенных пиков в диапазоне 3,2-3,6 kDa.

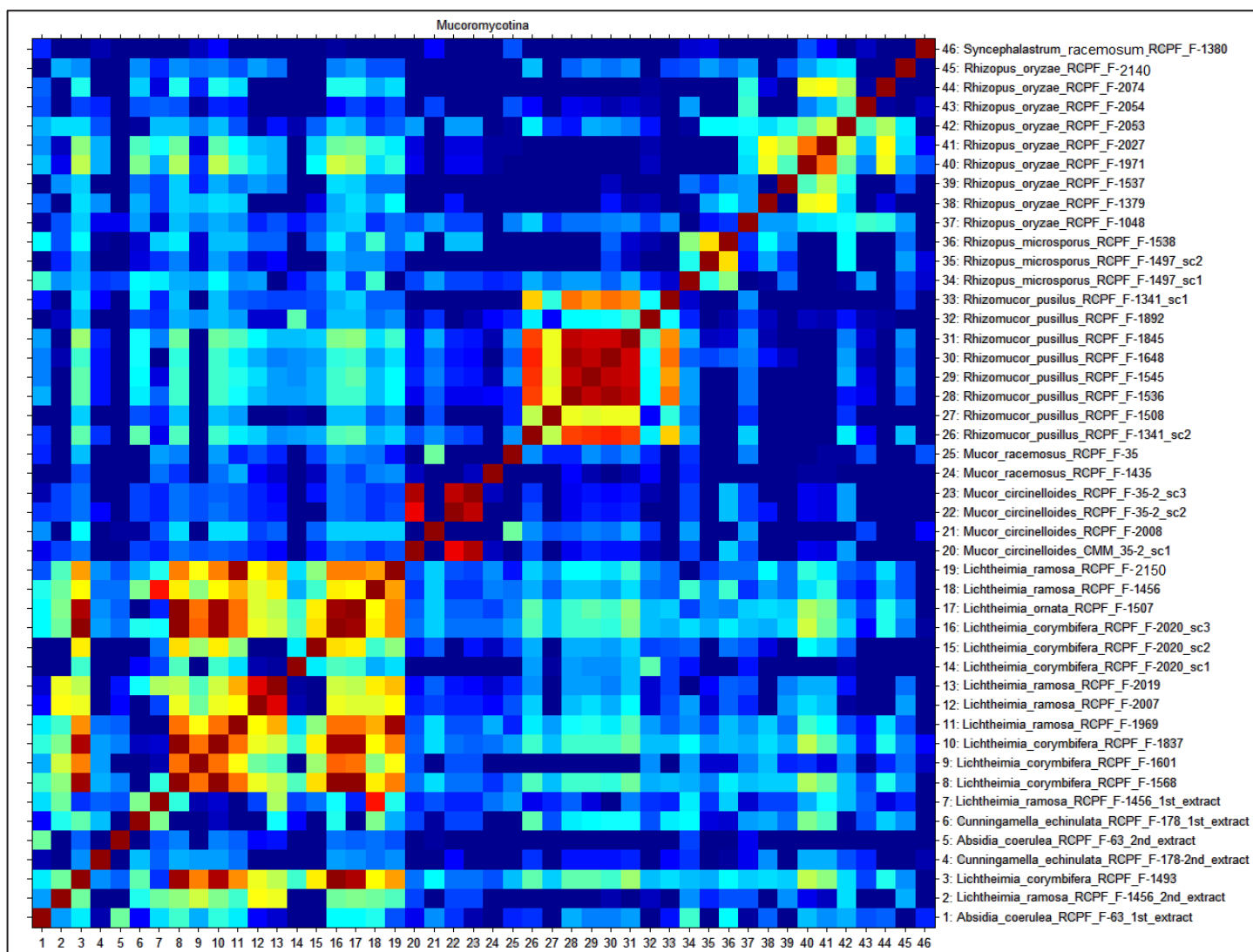


Рис. 2. Сопоставление MALDI-масс-спектров мукоромицетов методом построения матрицы сложного коэффициента корреляции. По вертикальной и горизонтальной оси матрицы цифрами обозначены масс-спектры, справа указаны соответствующие им штаммы. Обозначения: sc1, sc2, sc3 – субкультуры штамма; 1st extract, 2nd extract – последовательно полученные экстракты из культур, подготовленных первым способом (см. «Материалы и методы»); *M. circinelloides* CMM 35-2 = РКПГ F-1977. На пересечении перпендикуляров по горизонтальной и вертикальной оси показаны результаты попарного сравнения масс-спектров, значение коэффициента корреляции отражено цветом шкалы тепловизора.

Несколько более гетерогенной представляется группа штаммов *Lichtheimia* spp. Внутри группы *L. corymbifera* атипичные свойства проявил штамм РКПГ F-2020. Примечательно, что масс-спектры штамма *L. ornata* и ряда штаммов *L. ramosa* не имеют отчетливых отличий от штаммов *L. corymbifera*. Из штамма *L. ramosa* РКПГ F-1456 удалось получить 3 масс-спектра, из них 2 отличались от группы масс-спектров *L. corymbifera* и других штаммов *L. ramosa*, но третий, напротив сходен с ними. У большинства *Lichtheimia* spp. виден комплекс из 1-3 близко расположенных пиков около 7 kDa, пик 6,2 kDa (у *L. ornata* РКПГ F-1507 и *L. ramosa* РКПГ F-1456 может не прослеживаться или быть низкоинтенсивным), комплекс 5,0-5,2 kDa (у *L. ornata* РКПГ F-1507 и *L. ramosa* РКПГ F-1456 более широкий), высокая серия пиков 4,4-4,9 kDa (у *L. ornata* РКПГ F-1507 и *L. ramosa* РКПГ F-1456 смещена в низкомолекулярную сторону), «дуплет» из пиков 3,8 kDa. У всех представителей рода виден пик по m/z чуть более 3,2 kDa, за ним нередко следует близко расположенная серия пиков высокой интенсивности.

Наиболее гетерогенными оказались штаммы *R. arrhizus*: коэффициент корреляции в матрице у этой группе имел наименьшие значения. При сравнении масс-спектров между собой трудно выявить стабильные компоненты. К таким можно условно отнести: пики 8,0 и 7,0 kDa, «дуплет» из пиков 3,8 kDa, серии пиков, расположенные в областях 3,2-3,4 kDa, 3,4-3,6 kDa, а также 4,0 kDa. У различных штаммов встречается множество других сочетаний пиков, в части случаев они повторяются, иногда, напротив, уникальны для конкретного штамма.

В отношении других изученных групп мукоромицетов сложнее судить о масс-спектрометрическом разнообразии из-за небольшого количества доступных для исследования штаммов. У *R. microsporus* относительно постоянные компоненты представлены в MALDI-масс-спектре пиками 7,1; 6,2; 5,8 kDa, группами по 3 пика в интервалах 6,4-6,8 и 4,2-4,4 kDa, сериями пиков в диапазонах 3,2-3,6 kDa и 3,8-4,0 kDa. В масс-спектрах из культур *M. circinelloides* ярко представлены такие компоненты, как пики 7,0; 6,8; 6,45; 5,6; 5,4; 5,0; 3,4 kDa, комплекс из 4-х пиков в интервале 4,0-4,0 kDa; серия пиков в интервале 6,0-6,2 kDa.

ВЫВОДЫ

1. Метод получения поверхностной микроколонии с обработкой биомассы на масс-спектрометрической мишени в форме ленты является оптимальным приемом пробоподготовки мукоромицетов к MALDI-TOF-масс-спектрометрии.

2. Метод масс-спектрометрической съемки с использованием «узкого просмотрового окна» отчетливого пика/комплекса пиков и высокой суммации позволяет получать характеристические MALDI-масс-спектры из сложных для исследования образцов, какими являются пробы белковых экстрактов или обработанной биомассы мукоромицетов.

3. В композиции MALDI-масс-спектров мукоромицетов имеются пики, специфичные для группы таксонов, рода, вида, штамма.

4. Масс-спектрометрический полиморфизм основных возбудителей мукоромикоза возрастает в ряду *R. pusillus* → *Lichtheimia* spp. → *R. arrhizus*.

5. *L. corymbifera*, *L. ornata* и *L. ramosa* имеют масс-спектрометрические различия, однако их недостаточно для дифференцировки штаммов этих видов друг от друга во всех случаях.

6. Используемая стандартная «библиотека» масс-спектро-профилей не эффективна для видовой идентификации культур мукоромицетов, подготовленных предложенными способами, с целью устранения этого недостатка разработана оригинальная «библиотека» МСП.

Коллектив авторов благодарит заведующую Российской коллекцией патогенных грибов Чилину Галину Анастасьевну, ассистента кафедры медицинской микробиологии Богданову Татьяну Владимировну, старшего лаборанта Алексева Андрея Юрьевича за предоставление штаммов мукоромицетов для исследования, а также сотрудников НИЛ молекулярно-генетической микробиологии за предоставление данных о результатах видовой идентификации штаммов.

Работа выполнена в рамках Государственного задания 056-00056-1900 «Изучение морфологических особенностей патогенных мукоромицетов – возбудителей микозов у пациентов с иммунодефицитами» (2019- 2021 гг.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Dolatabadi S., Kolecka A., Versteeg M., et al. Differentiation of clinically relevant Mucorales *Rhizopus microsporus* and *R. arrhizus* by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). J. Med. Microbiol. 2015; 64 (7): 694-701. doi: 10.1099/jmm.0.000091
2. Schwarz P., Guedouar H., Laouiti F., et al. Identification of Mucorales by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. J. Fungi (Basel). 2019; 5 (3): 56. doi: 10.3390/jof5030056

3. Shao J., Wan Z., Li R., Yu J. Species identification and delineation of pathogenic Mucorales by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56 (4): e01886-17. doi: 10.1128/JCM.01886-17
4. Vatanshenassan M., Boekhout T., Meis J.F., et al. *Candida auris* identification and rapid antifungal susceptibility testing against echinocandins by MALDI-TOF MS. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9: 20. doi:10.3389/fcimb.2019.00020
5. Gitman M.R., McTaggart L., Spinato J., et al. Antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* spp. by using a composite correlation index (CCI)-based matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry method appears to not offer benefit over traditional broth microdilution testing. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 55 (7): 2030-2034. doi: 10.1128/JCM.00254-17
6. Vasilyeva N.V., Riabinin I.A., Bogomolova T.S., Borzova J.V. Mass-spectrometric differences of *Aspergillus* spp. with different sensitivity to itraconazole and amphotericin B. *Aspergillus & Aspergillosis Website.* 2018: https://www.aspergillus.org.uk/conference_abstracts/mass-spectrometric-differences-aspergillus-spp-different-sensitivity
7. Vasilyeva N., Vybornova I., Kovyrshin S., et al. *In vitro* susceptibilities of mucormycosis etiologic agents to amphotericin B and posaconazole. *Journal of Fungi.* 2021; 7 (11): 311-312. doi: 10.3390/jof7110916
8. Vasilyeva N., Riabinin I., Rasulova S., Ignatyeva S., Taraskina A. Features of clusterization of mass-spectra of *Aspergillus* spp. cellular extracts. 28th ECCMID, 2018: <http://www.eccmidlive.org/#resources/features-of-clusterization-of-mass-spectra-of-aspergillus-spp-cellular-extracts>
9. Vasilyeva N., Riabinin I., Jolya Y., et al.. The similarities and differences of *Aspergillus* and *Penicillium* strains detected by MALDI-TOF mass spectrometry of the hyphal extracts. ESCMID eLibrary. ECCMID 2019. P2204.: https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/?q=Jolya&id=2173&L=0&x=17&y=19
10. 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.: Из-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2018: 27-28. [Lunina S.S., Ryabinin I.A. Spectrum-forming polypeptides of *Candida glabrata*. «Translational medicine: from theory to practice»: Proceedings of the 6th scientific-practical conference of young scientists. Ed. by A.V. Silin, M.D. SPb.: Publishing house of the North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, 2018: 27-28 (in Russ)].

Поступила в редакцию журнала 12.01.2022

Рецензент: Т.С. Богомолова

XXX КОНГРЕСС ЕВРОПЕЙСКОЙ АКАДЕМИИ ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ (EADV)

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

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

XXX CONGRESS OF EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEREOROLOGY

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

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

С 30 сентября по 2 октября 2021 г. состоялся виртуальный юбилейный XXX Конгресс EADV (Европейской Академии Дерматологии и Венерологии). С точки зрения нынешнего Президента EADV Stratigos A. (Греция) (Фото), особый, XXX Конгресс представляет собой значительное научное явление, направленное не только на демонстрацию последних достижений в области дерматовенерологии, но и предназначенное для глубокого научного обмена между врачами – дерматовенерологическим сообществом.



Фото. Президент EADV Stratigos A. (Греция)

Данный Конгресс наглядно продемонстрировал тот значительный качественный прорыв, который произошел в сфере диагностики и лечения кожных и венерических болезней за прошедшие 30 лет. В настоящее время членами EADV являются около 7 тысяч человек из 116 стран мира. В работе данного форума приняло участие более 550 лекторов, было прочитано 10 пленарных лекций и проведено 160 научных сессий. В пресс-релизе Конгресса были приведены следующие данные, полученные Академией, которые лишним раз подчеркивают значимость такой медицинской дисциплины, как дерматовенерология. В структуре общей заболеваемости европейского населения

за последние 12 месяцев кожные заболевания являлись одними из самых распространенных: почти половина (47,9%) европейцев за указанный период заявила о наличии хотя бы одного кожного заболевания. Наиболее часто встречающимися были различные микотические инфекции (болен каждый десятый европеец), далее (из наиболее часто определяющихся) регистрировали атопический дерматит, алопецию и угри (обнаруживали более чем в 1 случае из 20 человек). Полученные данные обобщены в исследовании, которое получило название «Бремя кожных заболеваний в Европе», презентация которого состоялась в рамках форума. Данная работа является наиболее крупной из эпидемиологических изысканий в области дерматологии, проводившейся когда-либо в Европе, в настоящее время обобщены данные от 44 689 взрослых пациентов из 27 европейских стран.

Научная программа XXX Конгресса EADV традиционно была насыщенной и разнообразной: в рамках проводимых научных сессий рассматривались вопросы микробиома кожи при различной дерматологической патологии, применение новейших средств биологической терапии при различных дерматозах (чаще – при атопическом дерматите и псориазе), использование дерматоскопии в диагностике различных кожных заболеваний. Целый ряд научных сессий был посвящен поражениям кожи, связанным с инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2.

Традиционно вопросам медицинской микологии было уделено значительное внимание. Проблемам микотических кожных инфекций была посвящена отдельная научная сессия, на которой выступили ведущие микологи: профессор Piguet V. (Канада) представил доклад «Стопа атлета и онихомикоз»; проф. Нау R.J. (Великобритания) в своем выступлении осветил вопросы микотических инфекций у иммуносупрессивных пациентов; в сообщении проф. Silva C.L. (Португалия) было уделено внимание сложностям в лечении кандидоза. Пожалуй, наибольший интерес в рамках этой сессии вызвал доклад Saunte D.M. (Дания) о «скрытых» микозах и трудностях в диагностике этих состояний, значительное внимание в сообщении было уделено вопросам резистентности к антифунгальным препаратам, которая из года в год приобретает все большую актуальность. Особый интерес в рамках различных сессий Конгресса вызвали 2 доклада, представленные проф. Tosti A. (США), которая является одним из ведущих специалистов по диагностике и лечению онихомикозов; ее сообщения были посвящены современным представлениям о терапии, этиологии и патогенезу данного заболевания.

Проведение очередного, XXXI Конгресса EADV запланировано на осень 2022 года.

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