

МОРФОЛОГО- ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТОКСИНООБРАЗУЮЩИХ ГРИБОВ – БИОДЕСТРУКТОРОВ ИЗ РОДА *STACHYBOTRYS*

Доршакова Е.В. (научный сотрудник)*

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ГОУ
ДПО СПб МАПО, Санкт-Петербург, Россия

© Доршакова Е.В., 2011

Stachybotrys spp. – широко распространенные в мире микромицеты-биодеструкторы и активные токсинопродуценты. Будучи потенциально опасными для здоровья людей, *Stachybotrys* spp. привлекают к себе все большее внимание специалистов различного профиля. В настоящее время видовой состав и особенности биологии *Stachybotrys* spp. остаются недостаточно полно изученными.

Ключевые слова: *Stachybotrys* spp., стахиботриотоксикоз, токсигенность, трихотеновые микотоксины

MORPHOLOGO- PHYSIOLOGICAL PECULIARITIES OF TOXIN- PRODUCING FUNGI – BIODESTRUCTORS FROM *STACHYBOTRYS* GENUS (REVIEW)

Dorshakova E.V. (scientific researcher)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of SEI
APE SPb MAPE, St. Petersburg, Russia

© Dorshakova EV, 2011

Stachybotrys spp. are widely distributed micromycetes in the world and active toxin producers. Representing potential danger for people health *Stachybotrys* spp. draw more attention of different specialists. *Stachybotrys* species composition and biological features are not completely learned today.

Key words: *Stachybotrys* spp., stachybotryotoxicosis, thrichothecene mycotoxins, toxigenicity

ВВЕДЕНИЕ

Stachybotrys spp. – сапробные виды, обнаруживаемые на гниющих растительных остатках [1,2]. Известно, что при благоприятных условиях для прорастания спор, они нередко появляются на материалах, содержащих целлюлозу, в частности, на стенах и крышах домов [3-6]. Микотоксины – вторичные метаболиты микромицетов, продуцируемые в ходе их обменных процессов [7]. Качественный и количественный состав микотоксинов *Stachybotrys* spp. может варьировать в зависимости от условий окружающей среды: источников питания, температуры, влажности, конкуренции с различными представителями микроорганизмов в ассоциациях. Отдельные виды и штаммы *Stachybotrys* spp. различаются по токсигенным свойствам [3,4].

Стахиботриотоксикоз: первые упоминания, клинические проявления, насущная проблема современности.

В научной литературе имеются немногочисленные данные о спектре микотоксинов *Stachybotrys* spp., а также об их токсичных эффектах. Наиболее известным продуцентом микотоксинов является *Stachybotrys chartarum* [8]. Обнаружили, что *S. chartarum* вызывает стахиботриотоксикоз [1,9] – один из наиболее тяжелых микотоксикозов. Стахиботриотоксикоз возникает у людей, пребывающих в помещениях, контаминированных *S. chartarum*, а также у сельскохозяйственных животных при поедании растительности, пораженной *S. chartarum* [2-4, 10].

В публикациях [2, 11] авторы отмечают, что токсичность *S. chartarum* впервые была обнаружена в 30-х годах двадцатого века в южных регионах Украины, где происходили массовые случаи заболевания лошадей с необычным клиническим и анатомическим комплексом [8, 12], а также с высоким уровнем смертности. Симптомы болезни – тяжелые воспалительные и некротические процессы слизистых оболочек пищеварительного тракта, геморрагический диатез, развитие лейкопении и агранулоцитоза. Острая форма болезни продолжалась от 3 до 10 суток и, как правило, заканчивалась летальным исходом. Больные животные часто страдали септициемией и подвергались заражению оппортунистическими инфекциями. Ряд наблюдений ученых стал основой для предположения о происхождении болезни из-за употребления животными недоброкачественных кормов – яровой соломы, имевшей на продольном внутреннем разрезе темные пятна. Исследователи провели микологический анализ соломы, в результате которого удалось выявить интенсивный рост *S. chartarum*. При экспериментальном скармливании лошадям чистой культуры гриба происходило развитие типичной клинической картины болезни. Гриб оказался вредным и для здоровья людей, поскольку у лиц, соприкасавшихся с зараженным кормом, также появлялись симптомы этого заболевания. Больные ощущали головные боли, повышение

* Контактное лицо: Доршакова Евгения Владимировна,
Тел.: (812) 303-51-40

температуры, общую слабость. Имели место раздражения слизистых оболочек глаз, носа, зева, бронхов, сопровождающиеся такими симптомами, как жжение в глазах, сухость во рту, боль в горле, насморк, кашель, охриплость, а в некоторых случаях – носовое кровотечение [11]. Было обнаружено, что пыль от зараженного корма, состоящая преимущественно из спор возбудителя и мельчайших клеточных частичек, обладала токсическими свойствами [13] и в процессе работы попадала на внешние покровы человека. Выявили, что причиной заболевания является *S. chartarum*, и заболевание получило название «стахиботриотоксикоз».

В 1969 г. П.Н. Кашкиным была описана заболеваемость профессиональным пневмостахиботриотоксикозом у рабочих предприятий, изготавливающих хлопковые и лубяные волокна, в том числе при обработке низкосортного сырья. Было установлено, что *S. chartarum*, при попадании в организм человека через респираторные пути, обуславливал заболевание, характер которых точно был определен на лабораторных животных с использованием чистых культур этого гриба [11]. Большой вклад в изучение стахиботриотоксикоза внесли российские ученые: К.И. Вертинский, Ф.М. Пономаренко, М.И. Саликов, В.И. Мутовин, Н.А. Спесивцева и др.

Б.Д. Нельсон с соавторами [2] отмечают, что в 1977 году в Венгрии от стахиботриотоксикоза пострадали работники ферм, имевших дело с соломой, пораженной грибом. Симптомы заболевания у них проявлялись спустя сутки после контакта с возбудителем. Исчезновение признаков заболевания наблюдали после прекращения работ на фермах. В 1996 году в Германии, при контакте с гниющей растительностью, пострадали люди, работавшие в садах. У них было отмечено болезненное поражение кончиков пальцев, характеризующееся отслоением кожи [2, 10, 14].

В 1980-х годах жители Америки столкнулись с проблемой отравления токсинами грибов, выросших в помещениях [5, 6, 8-10]. В одном из домов г. Чикаго, где люди в течение пяти лет жаловались на головные боли, боли в горле, периодическое повышение температуры, диарею, дерматиты и общее недомогание, исследовали пробы воздуха. При микологической экспертизе было доказано наличие в воздухе данного жилого помещения спор *S. chartarum*. В 1986 г. В.А. Крофт с сотрудниками сообщили, что возможной причиной плохого самочувствия людей являются трихотеценовые токсины грибов, продуцируемые *S. chartarum* [15]. Б.Д. Нельсон, проведя ряд испытаний на опытных животных, подтвердил предположение Крофта о токсическом эффекте трихотеценов [2]. Позднее Е. Джоханнинг с коллегами исследовали влияние микотоксинов *S. chartarum* на здоровье офисных работников, долгое время находившихся в помещении, загрязненном грибами, и выявили у них определенные изменения в иммунной системе [16].

В 1993-1994 годах в городе Кливленде и штате Огайо происходили массовые заболевания легких

у детей в результате контакта с токсинами грибов [5-10, 14, 17]. У младенцев в легких были обнаружены кровотечения и гемосидероз. Во всех зафиксированных случаях болезнь развивалась у детей, находившихся в помещениях, загрязненных плесневыми грибами, в том числе и стахиботрисом. Причиной заболеваний было признано отравление трихотеценовыми токсинами стахиботриса [6, 8]. В Хьюстоне также отмечали аналогичные случаи заболеваний. Важный вклад в раскрытие их причины внесло исследование промывных вод из легких семилетнего мальчика, в которых был обнаружен изолят *S. chartarum* [8]. Клиническая картина заболевания у него была следующей: хронический кашель, периодические приступы лихорадки, быстрая утомляемость. В доме, где находился мальчик, выявили следы протечек воды, а также контаминацию обоев *S. chartarum*. После того, как ребенка изолировали из поврежденного грибами помещения, симптомы заболевания исчезли. Сходные последствия отравления детей микотоксинами стахиботриса происходили в Канзас Сити [8]. Веспер с соавторами выдвинули предположение о возможной роли стахилизина и гемоллизина, продуцируемых *S. chartarum*, в развитии кровотечений и гемосидероза легких [18, 19]. Многократные случаи заболеваний детей привлекли внимание медицинского сообщества и общественности к проблеме роста стахиботриса в помещениях. Сведения о токсичности грибов стали оглашаться средствами массовой информации. Поражения зданий грибами все чаще стали фигурировать в судебных делах. В 2000 году Центр по контролю и профилактике заболеваний в Атланте опубликовал отчет о многопрофильности влияния *S. chartarum* на здоровье людей. Помимо отравляющего действия микотоксинов, было упомянуто их гемолитическое, аллергенное и иммуносупрессирующее действия [18, 19].

Современный таксономический статус *Stachybotrys* spp. и особенности биологии

Надцарство:	Эукариоты (<i>Eucaryota</i>)
Царство:	Грибы (<i>Fungi</i>)
Класс:	Дейтеромицеты, несовершенные грибы, опико(фео)гифомицеты (<i>Deuteromycetes (Fungi imperfecti)</i>)
Порядок:	Гифомицетовые, гифомицеты (<i>Hyphomycetales</i>)
Семейство:	Дематиевые (<i>Dematiaceae</i>)

Stachybotrys spp. имеют многоклеточную грибницу, но развиваются только в гаплоидной фазе, бесполое размножение у них происходит в виде конидиального спороношения, развивающегося на мицелиальных стромах, выходящих на поверхность субстрата. Как представитель семейства дематиевых (*Dematiaceae*) род *Stachybotrys* имеет темные конидиеносцы, симподиально отходящие от мицелия.

Представители *Stachybotrys* spp. широко распространены в природе, развиваясь на мертвых частях

растений (стерне, соломе, засохших стеблях). Усваиваемой формой углеродсодержащего субстрата у них является целлюлоза. Благодаря наличию фермента – целлюлазы, они способны осуществлять неотъемлемый первоначальный этап ее разложения – экзо-гидролиз [20]. *Stachybotrys* spp. адаптируются к целлюлозе морфологической структурой, развиваются вдоль её фибрилл своими гифами. Наиболее активно процесс разложения целлюлозы *Stachybotrys* spp. осуществляют в нейтральных и щелочных почвах. Важно отметить, что *Stachybotrys* spp. способны расти в условиях с низким содержанием азота [21], в которых невозможно существование большинства других представителей микобиоты, обладающих целлюлазной активностью.

Видовой состав *Stachybotrys* spp.

Установление точного видового состава, а также детальное изучение видоспецифичных особенностей представителей *Stachybotrys* spp. является актуальной задачей для исследователей в настоящее время. *Stachybotrys* spp., обладая высокой целлюлолитической активностью, являются важным звеном в разложении растительных остатков, их присутствие в почве обуславливает доступность низкомолекулярных углеродсодержащих субстратов для других микроорганизмов [21]. Важно отметить, что некоторые виды *Stachybotrys* spp. являются продуцентами токсинов, вызывающих отравления у людей и животных.

В 1837 году Корда описал первого представителя *Stachybotrys* spp. – *S. atra* [22]. Гриб был обнаружен на обоях одного из жилых домов г. Праги [2]. Позднее видовое название *Stachybotrys atra* Corda заменили на *S. chartarum* Hughes [23]. В естественной среде обитания *S. chartarum* является типичным представителем почвенной микобиоты. В помещениях *S. chartarum* нередко появляется на материалах, содержащих целлюлозу: обоях, гипсокартоне, потолочной плитке (Рис. 1) [2-9, 24, 25].



Рис. 1. Поражение обоев *S. chartarum* в жилом помещении

В лабораторных условиях наиболее интенсивный рост и спороношение *S. chartarum* отмечают на кар-

тофельном и кукурузном агаре. В чистой культуре на питательных средах *S. chartarum* образуют темноокрашенные колонии, диаметром до 10 см, через 7 суток. Во время спороношения *S. chartarum* образует черные скопления конидий. Конидиофоры у *S. chartarum* темно-оливкового цвета, шероховатые, септированные, одиночные или собранные в группы, могут быть простыми или иметь нерегулярное ветвление. Фиалиды *S. chartarum* крупные, оливкового цвета, эллипсоидной формы, достигают 9-14 мкм в длину. Для наиболее точной видовой идентификации также следует отметить нередкое образование заметного воротничка вокруг основания фиалид и наличие капель, покрывающих стенки конидиофоров. Морфология конидий *S. chartarum* изменяется в зависимости от возраста культуры. Молодые конидии гиалиновые и гладкие, зрелые – темно-коричневые, черные или темно-оливковые, с хорошо заметной шероховатостью в виде борозд или шипов [8, 21]. Во время размножения поверхность конидий нередко приобретает острый выступ, который лучше всего различим при рассмотрении в электронном сканирующем микроскопе, а также с иммерсией при 1000-кратном увеличении. Размер конидий *S. chartarum* варьирует от 6,9-14(17)×3-7,7 мкм [11], 9-14×4-6 мкм [26], 10-13×4-6 мкм [27]. По форме конидии *S. chartarum* чаще всего эллипсоидные [8] (Рис. 2).

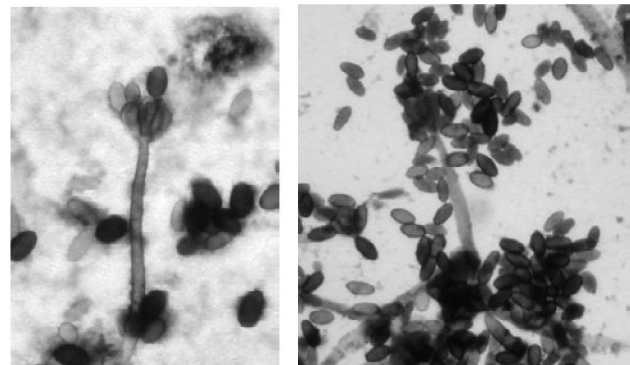


Рис. 2. Конидии с конидиеносцами *S. chartarum* двух разных штаммов, ×100 [8].

Джонг и Девис в 1976 году описали 15 видов *Stachybotrys* spp. [26]. В основе предложенной ими классификации лежат морфологический критерий и ростовые характеристики колоний *Stachybotrys* spp. На описанных ими данных базируется большинство последующих авторов [3,4].

В настоящее время, к сожалению, не сложилось единого мнения по поводу видового состава *Stachybotrys* spp. По Андерсену, количество видов *Stachybotrys* spp. в настоящее время достигает более 40 [3, 4], в то время как в статьях Пинруана – их более 50 [28]. Пинруан с коллегами в 2004 г. провели систематическое описание следующих видов *Stachybotrys* spp.: *S. bambusicola*, *S. bisbyi*, *S. breviscula*, *S. cannae*, *S. chartarum*, *S. chlorohalonata*, *S. cordylines*, *S. cylindrospora*, *S. dichroa*, *S. echinata*, *S. freycinetiae*, *S. globosa*,

S. guttilispora, *S. havanensis*, *S. kampalensis*, *S. capiti*, *S. klebahnii*, *S. longispora*, *S. lunzinensis*, *S. microspora*, *S. mangiferae*, *S. nephrospora*, *S. nephrodes*, *S. nilagirica*, *S. oenanthus*, *S. palmae*, *S. palmijunci*, *S. parvispora*, *S. proliferata*, *S. queenslandica*, *S. ramosa*, *S. renispora*, *S. renisporoides*, *S. reniverrucosa*, *S. ruwenzoriensis*, *S. sansevieriae*, *S. sinuatothra*, *S. sphaerospora*, *S. stilboidea*, *S. subsimplex*, *S. suthepensis*, *S. theobromae*, *S. thermonolerns*, *S. virgata*, *S. verrucispora*, *S. waitakere*, *S. xanthosomae*, *S. yunnanensis*, *S. zaeae*, *S. zuckii* [28].

Большая часть видов, причисленная к *Stachybotrys* spp., была перенесена из рода *Memmoniella*. *Stachybotrys* spp. и *Memmoniella* spp. считают обособленными друг от друга таксономическими единицами, однако они имеют большое количество генетических сходств [19, 28, 29]. Между *Stachybotrys* spp. и *Memmoniella* spp. существует всего лишь одно морфологическое различие: у представителей *Stachybotrys* spp. конидии сгруппированы небольшими гроздьями, а у *Memmoniella* spp. – в виде цепочек [28]. В настоящее время вопрос о переносе ряда видов из рода *Memmoniella* в род *Stachybotrys* остается открытым. На первом этапе определения таксономической принадлежности к роду проводят сравнения на уровне морфологических признаков и продуцируемых метаболитов с признаками наиболее близкого представителя *Stachybotrys* spp. На втором этапе выполняют молекулярно-генетические исследования, результатами которых подтверждают их родство. Так, *Memmoniella echinata* на основании общих черт со *S. chartarum* (высокой целлюлозолитической способности, продукции токсичных веществ, ряда трихотенов) была перенесена в род *Stachybotrys* и названа *S. echinata*.

Большинство представителей *Stachybotrys* spp., растущих на поврежденных водой зданиях, ученые долгое время характеризовали как *S. chartarum*. Авторы полагали, что внутри вида *S. chartarum* имеется широкая вариабельность морфологических и биохимических признаков. Андерсен с коллегами провели исследования на изолятах грибов *Stachybotrys* spp. из Северной Европы и Соединенных штатов Америки и выявили, что изоляты сильно различаются между собой по морфологическим, физиологическим и химическим показателям. В итоге среди биодеструкторов *Stachybotrys* spp. в данных местах обитания обнаружили два штамма *S. chartarum* и ранее неизвестный вид, получивший название *S. chlorohalonata*. Андерсен с коллегами подтвердили молекулярно-генетическими методами наличие генетических различий между *S. chartarum* и *S. chlorohalonata* [3,4]. Ли и Янг, изучая морфологию *Stachybotrys* spp., растущих в помещениях, показали, что длина и ширина конидий, а также отношение этих показателей, значительно отличаются у отдельных изолятов *S. chartarum*. Было выдвинуто предположение о существовании криптических видов внутри микромицетов, именуемых *S. chartarum*. Авторы выявили присутствие шести видов рода *Stachybotrys* в помеще-

ниях: *S. chartarum*, *S. yunnanensis*, *S. chlorohalonata*, *S. elegans*, *S. microspora*, *S. nephrospora*. Анализом, проведенным методом Real-Time ПЦР, показано, что *S. chartarum* невозможно дифференцировать от *S. chlorohalonata* и *S. yunnanensis* с помощью праймеров, используемых ранее для его обнаружения. Была выдвинута гипотеза о существовании филогенетических связей между тремя видами *Stachybotrys* spp.: *S. chartarum*, *S. chlorohalonata* и *S. yunnanensis*.

Отличительные особенности наиболее часто встречающихся представителей *Stachybotrys* spp., контаминирующих стены зданий.

S. nephrospora Hansf был описан в 1943 году. Конидиеносцам *S. nephrospora*, достигающим в длину до 400 мкм, свойственно отсутствие ветвления, наличие гладких или шероховатых стенок [8, 28, 29]; его конидии также с шероховатыми стенками булавовидной формы, размером 8-12×4-6(-7) мкм, фиалиды гладкостенные, размером 10-12×5-6 мкм.

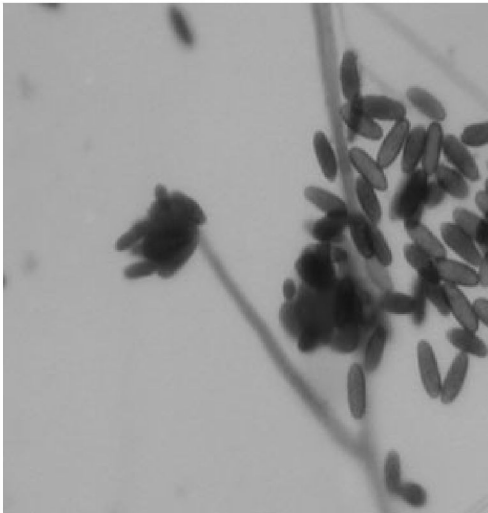
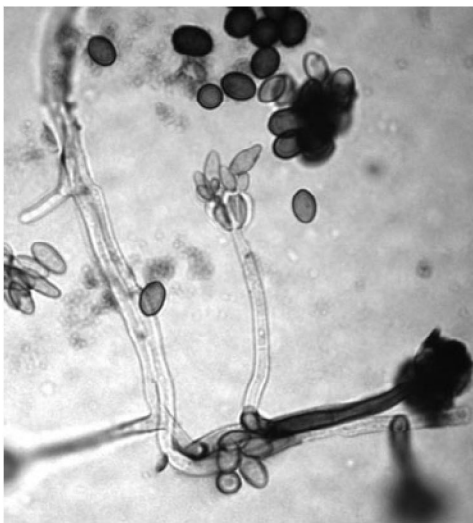
S. microspora Mathur and Sankhla описан в 1976 году. Вид имеет нерегулярное симподиальное ветвление конидиеносцев, округлые конидии с шероховатыми стенками диаметром 5-6 мкм.

В то время как *S. microspora* и *S. nephrospora* имеют явные морфологические различия от *S. chartarum*, между *S. yunnanensis* и *S. chlorohalonata* различия выражены менее заметно.

Морфология *S. yunnanensis* описана Конгом в 1997 году. Она совпадает с морфологией *S. chartarum* Hughes, исключения касаются размеров и формы конидий. Конидии *S. yunnanensis* имеют цилиндрическую или субцилиндрическую форму, размером 9,4±0,82×3,8±0,47 мкм, с соотношением длины к ширине примерно 2,5.

S. chlorohalonata описан Андерсеном в 2002 году. Его отличительными особенностями являются гладкие конидии, колонии меньшие по диаметру в сравнении с *S. chartarum*. Размер конидий *S. chlorohalonata* составляет 8,5±4,2×5,4±0,39 мкм с соотношением длины к ширине 1,8 [3]. Также важным диагностическим признаком *S. chlorohalonata* является появление зеленого внеклеточного пигмента на агаре Чапека, отсутствующего у *S. chartarum*.

Предположительно, *S. yunnanensis* и *S. chlorohalonata*, относительно недавно обнаруженные в стенах зданий, ранее могли быть идентифицированы как *S. chartarum*. В настоящее время представляет особый интерес изучение их токсигенности и установление роли в развитии стахиботриотоксикоза.

Рис. 3. Конидиеносцы с конидиями *S. yunnanensis*, ×100 [8].Рис. 4. Конидии с конидиеносцами *S. chlorohalonata*, ×100 [8].

Известно также, что контаминантами стен зданий могут быть *S. albipes* (Berk and Broome), *S. cylindrospora* (Jensen) и *S. echinata* (Rivolta). Они имеют сходные с *S. chartarum* морфологические признаки, отличаясь от него, главным образом, меньшими размерами конидий в зрелом состоянии. Этот факт следует учитывать при видовой идентификации *Stachybotrys* spp. Во избежание ложного определения вида, колонию следует инкубировать *in vitro* более 7 дней – период, достаточный для полного развития характерных признаков у *S. chartarum*.

Описание видов в роде *Stachybotrys* в настоящее время претерпевает изменения ввиду обнаружения ранее неизвестных свойств у отдельных представителей, которые, быть может, связаны с их адаптациями к среде обитания. Подробная и наиболее точная видовая характеристика дана лишь для *S. chartarum*.

Структура, физико-химические свойства, биологическая активность микотоксинов, продуцируемых *Stachybotrys* spp.

Термин «микотоксины» объединяет низкомолекулярные вторичные метаболиты, продуцируемые

плесневыми грибами. *Stachybotrys* spp. являются продуцентами трихотеценовых микотоксинов [30, 31].

Трихотеценовые микотоксины (ТТМТ) – наиболее широко распространенная в мире группа микотоксинов [30, 32]. В основе их структуры лежит система сопряженных колец, называемая трихотеканом [10, 33] (Рис. 5).

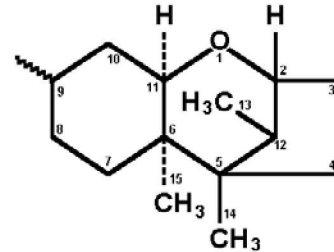


Рис. 5. Структурная формула трихотекана

Природные трихотецены содержат двойную связь в положении С-9 – С-10 и эпоксидную группу при 12 и 13 углеродных атомах (Рис. 6); последняя отсутствует у трихотекана. Эти функциональные группы обуславливают токсичные свойства ТТМТ [33].

Большую часть микотоксинов *Stachybotrys* spp. относят к группе макроциклических трихотеценов. Особенность данной группы – наличие дополнительного макроцикла, образованного при С-4 и С-15 (Рис. 6).

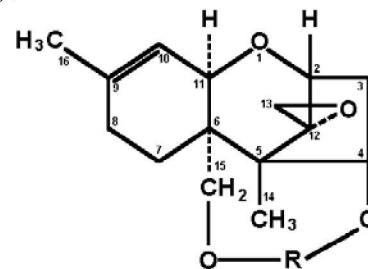
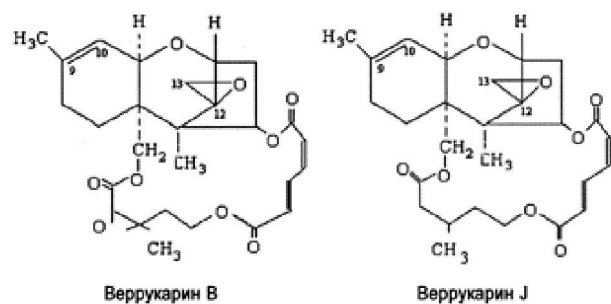
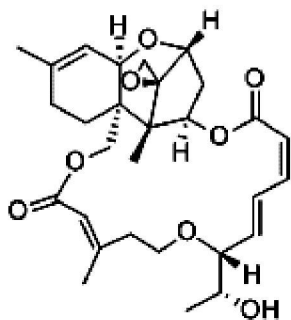


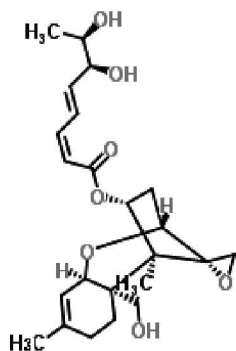
Рис. 6. Общая структурная формула макроциклических трихотеценов

Макроциклические трихотецены представлены ди- и триэфирами спирта веррукарина. Макроциклические триэфиры объединены в ряд веррукаринов, а диэфиры – в ряд роридинов. У веррукаринов в С6 положении находится карбонильная группа (Рис. 7.), а у роридинов – гидроксильная (Рис. 8). Представители внутри роридинов и веррукаринов отличаются, главным образом, заместителями в положении «4, 15».

Рис. 7. Структурные формулы веррукаринов, присутствующих в спектре микотоксинов *Stachybotrys* spp.

Рис. 8. Структурная формула роридина Е, продуцируемого *Stachybotrys* spp.

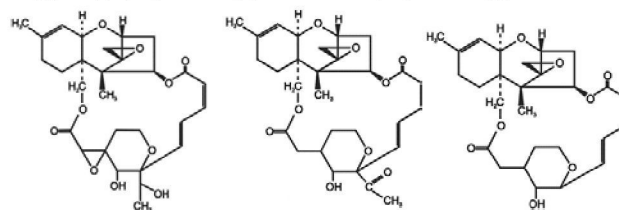
Микотоксины, продуцируемые *Stachybotrys* spp., относящиеся к классу рорицинов, представлены сатратоксинами, имеющими тетрагидропирановое кольцо в макролидной цепи. Триховеррины, триховерролы (Рис. 9) и триходермадиены имеют разрыв в макролидной цепи, их рассматривают в качестве промежуточных веществ макроциклических трихотеценов (МЦТЦ) [33].

Рис. 9. Структурная формула триховеррола В, продуцируемого *Stachybotrys* spp.

В чистом виде трихотеценовые микотоксины представляют собой бесцветные вещества кристаллической природы, нелетучие при обычных условиях [31, 32]. Трихотецены растворяются в ацетоне, этилацетате, хлороформе, диметилсульфоксиде, этаноле, метаноле, пропиленгликоле и практически не растворяются в воде, проявляют оптическую активность. Вещества этой группы отличаются высокой химической устойчивостью и термической стабильностью. В природных условиях на них практически не влияют естественные факторы окружающей среды. Такая устойчивость ТТМТ связана с высокой стабильностью основной группы их токсичности – эпоксидной. Для раскрытия эпоксидного кольца требуются жесткие условия. Наиболее эффективными способами детоксикации трихотециновых микотоксинов являются автоклавирование при повышенном давлении в растворе бисульфита натрия [32, 33], обработка концентрированными кислотами и щелочами.

Изучение биологической активности токсинов на сегодняшний день является непростой задачей в связи со сложностью их обнаружения, выделения и очистки.

В настоящее время наиболее полно как продуцент токсинов описан *S. chartarum*. Известно, что он вырабатывает следующие разновидности макроциклических трихотеценов: рорицин Е, L-2, сатратоксины Е, G, H (Рис. 10), веррукураины В, J, а также триховерроиды, триховерролы А и В, триховеррины А и В.

Рис.10. Структурные формулы сатратоксинов, продуцируемых *S. chartarum*

Установлено, что сатратоксины из группы трихотеценов продуцируются в больших количествах, чем остальные соединения. Исследователи предполагают, что токсины у *Stachybotrys* spp. могут образовываться в любой части мицелия. Макроциклические трихотецены были обнаружены во внешнем и внутреннем слоях плазмалеммы конидий *S. chartarum*. Согласно гипотезе Джарвиса, трихотеценовые микотоксины встраиваются в гидрофильный слой полисахаридов внутренней поверхности плазматической мембраны гриба и затем, приобретая способность растворяться в воде, экспортируются на поверхность мицелия. Важно отметить, что отравления микотоксинами грибов *Stachybotrys* spp. часто происходит при попадании токсичных спор в организм респираторным путем; проведенными опытами на крысах доказано высвобождение трихотеценовых микотоксинов из спор непосредственно в легких [34]. Очевидно, гидрофильный характер трихотеценовых микотоксинов способствует развитию гемосидероза легких у младенцев, облегчая проникновение сквозь микроокружение развивающихся клеток легких [9, 34].

Проведен ряд опытов по изучению токсинов *S. chartarum* на животных, а также на клетках животных и человека. Было обнаружено, что макроциклические трихотецены являются одними из наиболее опасных соединений благодаря своей способности ингибировать синтез белка. Д-В. Ли с коллегами установили, что наибольшим цитотоксическим эффектом из восьми трихотеценов, тестируемых на клетках млекопитающих, обладает сатратоксин G, токсичное действие которого оказалось сильнее, чем T2 токсина, вызывающего агранулоцитоз. Известно, что продуцируемые грибами *Stachybotrys* spp. атраноны, также обладают цитотоксическими свойствами, однако, гораздо менее выраженными, чем сатратоксины [8].

Украинские ученые в опытах, проводимых на млекопитающих, наблюдали иммуносупрессирующее действие биологически активных веществ, продуцируемых *S. chartarum*, которое приводило к повреждению лимфоидной ткани и костного мозга [10]. Исследованиями Б.Б. Джарвиса и других ученых показано,

что *S. chartarum* способен продуцировать девять фенолспиродриманов, относящихся к спиролактонам и спиролактамам, а также циклоспорин, выступающий в роли потенциального иммуносупрессирующего агента. Было выдвинуто предположение об усилении токсичности воздействия *S. chartarum* при совместном действии трихотециновых токсинов с иммуносупрессорными веществами [17].

Ярвис и другие ученые изучили токсичные свойства изолятов *S. chartarum* и *S. echinata*, растущих на стенах домов в юго-восточной части Шотландии. В ходе исследования было установлено, что *S. echinata*, в отличие от *S. chartarum*, не способны продуцировать макроциклические трихотецины. У обоих видов была выявлена способность вырабатывать простые трихотецины, триходермин и триходермол [17].

С.Е. Хинкли и другие исследователи относительно недавно обнаружили у *S. chartarum* атраноны А и G и два доллабеллановых дитерпена, однако эффект их совместного действия пока что не известен [35].

При изучении изолятов *Stachybotrys* spp. в странах Северной Европы и Соединенных штатов Америки были выявлены штаммные отличия в продукции токсинов *S. chartarum*. Штаммы были разделены на два хемотипа, имеющих одинаковые морфологические признаки, но отличающиеся продукцией метаболитов: хемотип А и хемотип S. Грибы хемотипа S продуцировали макроциклические трихотецины, сатратоксины и роридины, в то время как грибы хемотипа А – атраноны и доллабелланы. Молекулярно-генетическими исследованиями не доказаны видоспецифичные различия между изолятами [4]. Также среди *Stachybotrys* spp. в исследуемых пробах были выявлены как *S. chlorohalonata*, так и *S. chartarum* хемотипа А, продуцирующий атраноны и доллабелланы.

В настоящее время ученые продолжают открывать новые вещества с токсигенными свойствами, продуцируемые *Stachybotrys* spp. Веспер и другие обнаружили изоляты *S. chartarum*, продуцирующие стахилизин и гемолизин, вызывающие лизис эритроцитов. Предположительно, эти вещества являются патогенными факторами легочных кровоизлияний у младенцев [18, 19]. Гемолитические свойства токсичных веществ стахиботриса, проявляющееся у лабораторных животных в виде некрозов и геморрагий в мозге, тимусе, селезенке, кишечнике, легких, сердце, лимфатических узлах, печени, почках ранее были обнаружены Зайченко и другими [10].

Таким образом, *Stachybotrys* spp. продуцируют трихотециновые микотоксины: простые трихотецины и макроциклические (сатратоксины и роридины), атраноны, обладающие цитотоксическим эффектом; фенолспиродриманы (спиролактоны, спиралактам) и циклоспорины, действующие как иммуносупрессорные агенты, а также стахилизин и гемолизин, обладающие гемолитическими свойствами.

Методы обнаружения и количественного определения трихотециновых микотоксинов, продуцируемых *Stachybotrys* spp.

В настоящее время разработка методов обнаружения и количественного определения трихотецинов в культурах грибов, а также в естественно инфицированных субстратах, является исключительно важной задачей. Актуальность проблемы изучения микотоксинов *Stachybotrys* spp. связана с их потенциальной опасностью для человека и домашних животных [10].

Хроматографические методы

Прежде чем проводить анализ хроматографическими методами, необходимо экстрагировать токсические субстанции из *Stachybotrys* spp. Для этого используют органические растворители – хлороформ, метилхлорид, ацетон, ацетонитрил и др. Однократной экстракции одним растворителем достаточно лишь в случае исследования культур грибов, растущих на питательных средах [30, 31]. Если необходимо анализировать микромицет, растущий на целлюлозо-содержащих материалах, то следует предварительно экстрагировать образец в целях его депротеинизации, делипидизации, депигментации [10, 31]. Газожидкостную хроматографию (ГЖХ) можно использовать в случаях анализа простых трихотецинов. Особенностью ГЖХ является необходимость получения летучих производных микотоксинов [32]. Иногда детекцию трихотецинов проводят, используя комбинацию ГЖХ и масс-спектрометрию. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) применяют при анализе сложных смесей трихотециновых микотоксинов [10]. Для ВЭЖХ необходима более тщательная очистка исследуемых образцов, а тонкослойная хроматография (ТСХ) – преимущественно для качественного определения микотоксинов в образце. Количественный анализ предпочтительнее выполнять методами газовой и жидкостной хроматографии, а тонкослойную хроматографию удобнее всего использовать для массового анализа образцов, поскольку ее преимуществами являются простота выполнения и сравнительно меньшая стоимость.

Биологические методы

Биологические методы определения микотоксинов в пробе выполняют с использованием различных объектов: микроорганизмов (простейших, одноклеточных зеленых водорослей), культур клеток, кожных проб на кроликах и т.д.; они не отличаются специфичностью и более пригодны для скрининговых работ [10].

Иммунохимические методы

Как и в случае всех низкомолекулярных веществ, для иммунохимического анализа следовых количеств трихотецинов используют конкурентный твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). Так, американская компания EnviroLogix предлагает на-

бор QuantiTox для определения макроциклических трихотеченов – роридинов А, Е, Н и L-2, сатратоксинов G и H, изосатратоксина F, веррукарина А и J, а также веррукарола. Анализ выполняют на полистироловых стрипах с иммобилизованными группоспецифичными к макроциклическим трихотеченам антителами. В качестве калибратора используют роридин А. Чувствительность определения – 0,2 нг микотоксинов в 1 г экстрагируемой пробы (мицелий, штукатурка, дерево, ткани, пыль). Пользуясь этим набором, Бразел определял трихотечены в воздухе пораженных *S. chartarum* помещений на уровне 3 нг/м³ и выше (Brazel 2005). Попытка этого же автора обнаружить трихотечены в крови жителей пораженных помещений окончилась неудачей.

ВЫВОДЫ

1. Некоторые виды грибов рода *Stachybotrys* являются источниками трихотеченовых микотоксинов, оказывающих на организм цитотоксическое, иммуносупрессорное и гемолитическое действия.

2. Проблема заболеваемости стахиботриотоксикозом людей и домашних животных актуаль-

на в настоящее время, поскольку ее источники – *Stachybotrys* spp. широко распространены в природе и в антропогенной среде.

3. Видовой состав *Stachybotrys* spp. к настоящему моменту окончательно не установлен.

4. Среди грибов – биодеструкторов, обладающих токсичными свойствами, обращают на себя внимание три вида *Stachybotrys*: *S. chartarum*, *S. chlorohalonata* и *S. echinata*.

5. Наибольшую опасность для здоровья людей и домашних животных представляет вид *S. chartarum*, внутри которого выделяют штаммы с разной токсигенной активностью.

6. Ныне разработка методов обнаружения и количественного определения трихотеченовых микотоксинов в культурах грибов и в естественно инфицированных субстратах является исключительно важной задачей.

7. Необходимо установление точной видовой принадлежности токсигенных грибов, а также изучение экологических особенностей в связи с их потенциальной опасностью для человека и животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cruse M., Telerant R., Galagher T., et al. Cryptic species in *Stachybotrys chartarum* // J. Mycologia. – 2002. – Vol. 94, №5. – P.814-822.
2. Nelson B.D. Information on Toxic Indoor Mold: *Stachybotrys chartarum* // Department of Plant Pathology, North Dakota State University, Fargo. – 2001.
3. Andersen B., Nielsen K.F., Jarvis B.B. Characterization of *Stachybotrys* from water-damaged buildings based on morphology, growth and metabolite production // J. Mycologia. – 2002. – Vol. 94. – P. 392-403.
4. Andersen B., Nielsen K.F., Szaro F., et al. Molecular and phenotypic descriptions of *Stachybotrys chlorohalonata* sp. nov. and two chemotypes of *Stachybotrys chartarum* found in water-damaged buildings // J. Mycologia. – 2003. – Vol. 95, №6. – P. 1227-1238.
5. Pessi A.M., Suonketo J., Pentti M., et al. Microbial growth inside insulated external walls as an indoor air biocontamination source // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – Vol. 68. – P. 963-967
6. Hardin B. D., Kelman B. J., Saxon A. Adverse human health effects associated with molds in the indoor environment // J. Occup. Environ. Med. – 2003. – Vol. 45. – P. 470-478.
7. Елинов Н.П. Токсигенные грибы в патологии человека // Проблемы медицинской микологии. – 2003. – Т. 4, №4. – С. 3-7
8. Li D. -W., Yang C. S. Taxonomic history and current status of *Stachybotrys chartarum* and related species // Indoor Air. – 2005. – Vol. 15, Suppl 9. – P. 5-10.
9. Pestka J.J., Yike I., Dearborn D.G., et al. *Stachybotrys chartarum*, Trichothecene Mycotoxins and Damp Building – Related Illness: New Insights into a Public Health Enigma // Toxicological sciences. – 2008. – Vol. 104. – P. 4-26.
10. Зайченко А.М., Рубежняя И.Г., Кобзистая О.П. Макроциклические трихотеченовые микотоксины: продуценты, распространение, определение, физиология токсинообразования, токсигенный потенциал // Совр. проблемы токсикологии. – 2001. – №2. – С. 56-62.
11. Кашкин П.Н., Хохряков М.К., Кашкин А.П. Определитель патогенных, токсигенных и вредных для человека грибов. – А.: Медицина, 1979. – 272 с.
12. Cameron D.G. Toxicity profile of *Stachybotrys chartarum* // A Thesis In Environmental toxicology/ Submitted to the Graduate Faculty of Texas Tech University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of science. – 2009.
13. Flemming J., Hudson B., Rand, T.G. Comparison of inflammatory and cytotoxic lung responses in mice after intratracheal exposure to spores of two different *Stachybotrys chartarum* strains // Toxicol. – 2004. – Vol. 78. – P. 267-75.
14. Кобзистая О.П., Зайченко О.М. Микробиологическая активация Т-2 токсина // Совр. проблемы токсикологии. – 2001. – №1. – С. 39-41.
15. Croft W.A., Jarvis B.B., Yatawara C.S. Airborne outbreak of trichothecene toxicosis // Environ. – 1986. – Vol.20. – P. 549-552.
16. Johanning E., Morey P.R., Jarvis B.B. Clinical-epidemiological investigation of health effects caused by *Stachybotrys atra* building contamination // Proceeding in Indoor Air. – 1993. – Vol.1. – P.225-230.
17. Jarvis B.B., Sorenson W.G., Hintikka E-L., et al. Study of toxin production by isolates of *Stachybotrys chartarum* and *Memnoniella echinata* isolated during a study of pulmonary hemosiderosis in infants // Appl. and Environ. Microbiol. – 1988. – P. 3620-3625.

18. *Vesper S.J., Magnuson M.L., Dearborn D.G., et al.* Initial characterization of the hemolysin stachylysin from *Stachybotrys chartarum* // *Infect Immun.* – 2001. – Vol.69. – P.912-916.
19. *Vesper S.J. and Vesper M.J.* Stachylysin may be a cause of hemorrhaging in humans exposed to *Stachybotrys chartarum* // *Infect. Immun.* – 2002. – Vol. 70. – P.2065-2069.
20. *Чернов И.Ю., Марфенина О.Е.* Адаптивные стратегии грибов в связи с освоением наземных местообитаний. – М.: ПИИ РАН, 2010. – С. 95-111.
21. *Петрунина Я.В., Еланский С.Н., Лаврова О.И., Пост А.Н.* Рост *Stachybotrys chartarum* на природных и техногенных субстратах и сравнительный анализ штаммов // Успехи медицинской микологии, материалы первого всероссийского конгресса по медицинской микологии. – М.: Академия микологии, 2003. – С. 164-165.
22. *Corda A.C.I.* Icones Fungorum hucusque cognitorum. – 1837. – Vol.1. – P.21.
23. *Hughes S.J.* Revisionses hyphomycetum aliquot cum appendice de nominibus rejiciendis Can // *J. Bot.* – 1958 – Vol. 36. – P. 727-836.
24. *Brasel T.L., Douglas D.R., Wilson S.C., Straus. D.C.* Detection of airborne *Stachybotrys chartarum* macrocyclic trichothecene mycotoxins on particulates smaller than conidia // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2004. – Vol. 71. – P. 114-122.
25. *Gregory L., Pestka J.J., Dearborn D.G. and Rand T.G.* Localization of satratoxin-G in *Stachybotrys chartarum* spores and spore-impacted mouse lung using immunocytochemistry // *Toxicol. Pathol.* – 2004. – Vol.32. – P. 26-34.
26. *Jong S.C., Davis E.E.* Contribution to the knowledge of *Stachybotrys* and *Memmoniella* in culture *Mycotaxon.* – 1976. – Vol. 3. – P.409-485.
27. *Ellis M.B.* Dematiaceae Hyphomycetes CAB Commonwealth Mycological Institute. – Surrey, 1971.
28. *Pinruan O., McKenzie E.H.C., Jones E.H.G., Hyde K.D.* Two new species of *Stachybotrys* and key to the genus // *J. Fungal diversity.* – 2004. – Vol.17. – P.145-157.
29. *Haugland R.A., Vesper S.J., Harmon S.M.* Phylogenetic relationships of *Memmoniella* and *Stachybotrys* species and evaluation of morphological features for *Memmoniella* species identification // *J. Mycologia.* – 2001. – Vol. 93. – P. 54-65.
30. *Зайченко А.М., Андриенко Е. В., Цыганенко Е.С.* Макроциклические трихотеценовые микотоксины: токсичность для теплокровных // *Современные проблемы токсикологии.* – 2008. – №4. – С. 33-36.
31. *Жуленко В.Н., Рабиновича М.И., Таланов Г.А.* Ветеринарная токсикология – М.: Колос, 2002. – 384 с.
32. *Обольский О.А.* Модулирующее действие алиментарных факторов на метаболизм дезоксиниваленола (вомитоксина) у крыс: Дисс... канд. биол. наук: – Москва, 2001. – 126 с.
33. *Смирнов В.В., Зайченко О.М.* О биологической активности метаболитов грибов р. *Stachybotrys* // *Современные проблемы токсикологии.* – 2002. – № 3. – С. 15-24.
34. *Yike I., Rand T. G., Dearborn D.G.* Acute inflammatory responses to *Stachybotrys chartarum* in the lungs of infant rats: / time course and possible mechanisms // *Toxicol. Sci.* – 2005. – Vol. 84. – P.408-416.
35. *Hinkley S.E., Jarvis B.B.* Chromatographic method for *Stachybotrys* toxins // *Mycotoxin Protocols.* – 2001. – Vol. 157– P. 173-194.

Поступила в редакцию журнала 10.09.2011

Рецензенты: Н.П. Журавлева, О.В. Аак

