

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

N.P. Yelinov — Ph.D., prof. (Russia)

Deputies Chief Editor —

N.V. Vasilyeva — Ph.D., prof. (Russia)

N.N.Klimko — M.D., prof. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

V.B. Antonov — M.D., prof. (Russia), R.A. Araviyskiy — M.D., prof. (Russia), N.A. Belyakov — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), J. Bennett — M.D. (USA), S.A. Burova — M.D., prof. (Russia), V.L. Bykov — M.D., prof. (Russia), B. Dupont — M.D. (France), O.G. Hurzilava — M.D. (Russia), V.I. Golubev — Ph.D. (Russia), K.P. Kashkin — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Z.K. Kolb — M.D., (Russia), V.G. Kubas' — M.D., prof. (Russia), V.M. Leschenko — M.D., prof. (Russia), A.V. Lipnizky — M.D., prof. (Russia), V.I. Mazurov — M.D., corr. memb. of RAMS, prof. (Russia), Iu.A. Medvedev — M.D., prof. (Russia), I. Polachek — M.D. (Israel), A.G. Rakhmanova — M.D., prof. (Russia), K.I. Raznatovsky — M.D., prof. (Russia), F.P. Romanyuk — M.D., prof. (Russia), A.V. Samzov — M.D., prof. (Russia), A.P. Scherbo — M.D., corr. memb. of RAMS, prof. (Russia), N.V. Shabashova — M.D., prof. (Russia), A.V. Sobolev — M.D., prof. (Russia), F. Staib — M.D. (Germany), H.J. Tietz — M.D. (Germany), T.N. Trofimova — M.D., prof. (Russia), M.A. Viviani — M.D. (Italy), V.A. Zinzerling — M.D., prof. (Russia)

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 13, № 3, 2011

Saint Petersburg Medical Academy
of Postgraduate Education
Kashkin Research Institute
of Medical Mycology (KRI MM)

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 13, № 3, 2011

Санкт-Петербургская медицинская академия
последипломного образования (СПб МАПО)
Научно-исследовательский институт
медицинской микологии им. П.Н.Кашкина
(НИИ ММ)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

Н.П. Елинов — д.б.н., профессор (Россия)

Заместители главного редактора:

Н.В. Васильева — д.б.н., профессор (Россия),

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

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

В.Б. Антонов — д.м.н., профессор (Россия),
Р.А. Аравийский — д.м.н., профессор (Россия),
Н.А. Беляков — д.м.н., акад. РАМН, профессор
(Россия), Дж. Беннетт — доктор медицины (США),
С.А. Бурова — д.м.н., профессор (Россия), В.Л. Быков —
д.м.н., профессор (Россия), М.А. Вивиани — доктор
медицины (Италия), В.И. Голубев — д.б.н., вед.н.с.
(Россия), Б. Дюпон — доктор медицины (Франция),
К.П. Кашкин — д.м.н., академик РАМН, профессор
(Россия), З.К. Колб — к.м.н., (Россия), В.Г. Кубась —
д.м.н., профессор (Россия), В.М. Лещенко — д.м.н.,
профессор (Россия), А.В. Липницкий — д.м.н.,
профессор (Россия), В.И. Мазуров — д.м.н., чл.-корр.
РАМН, профессор (Россия), Ю.А. Медведев —
д.м.н., профессор (Россия), И. Полачек — доктор
медицины (Израиль), К.И. Разнатовский — д.м.н.,
профессор (Россия), А.Г. Рахманова — д.м.н.,
профессор (Россия), Ф.П. Романюк — д.м.н., профессор
(Россия), А.В. Самцов — д.м.н., профессор (Россия),
А.В. Соболев — д.м.н., профессор (Россия), Х.Й. Титц —
доктор медицины (Германия), Т.Н. Трофимова —
д.м.н., профессор (Россия), О.Г. Хурцилава — д.м.н.,
(Россия), В.А. Цинзерлинг — д.м.н., профессор (Россия),
Н.В. Шабашова — д.м.н., профессор (Россия), Ф. Штайб —
доктор медицины (Германия), А.П. Щербо — д.м.н.,
чл.корр. РАМН, профессор (Россия)

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

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

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ И ОБЗОРЫ

Микроскопические грибы в связи с проблемами биологической безопасности (обзор). <i>Озерская С.М., Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А.</i>	3
Морфолого-физиологические особенности токсинообразующих грибов-биодеструкторов из рода <i>Stachybotrys</i> (обзор). <i>Доршакова Е.В.</i>	13
Замечательный французский учёный – химик и врач Луи Камилл Майяр (1878-1936). К столетию реакции Майяра. <i>Елинов Н.П.</i>	22

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

Хронический инвазивный аспергиллез слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи (морфологическое исследование). <i>Байдик О.Д., Сысолятин П.Г.</i>	30
Изменения некоторых иммунологических параметров у больных атопическим дерматитом, получавших лечение препаратом «Гемалин». <i>Мавлянова Ш.З., Алимухамедова Ю.А., Гулямова Г.Ш., Есионова Е.В., Муминова С.Р.</i>	36
Комплексное лечение больных микозом стоп у старших возрастных групп. <i>Имамов О.С.</i>	40

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

Продукция цитокинов макрофагами при взаимодействии со штаммами <i>Cryptococcus neoformans</i> разной вирулентности <i>in vitro</i> . <i>Филиппова Л.В., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Васильева Н.В., Киселева Е.П.</i> ...	45
Влияние лекарственных растений на микромицеты и биологическую активность почвы. <i>Свистова И.Д., Парамонов А.Ю.</i>	50
Индикаторные виды микромицетов в почве под лекарственными растениями. <i>Свистова И.Д., Парамонов А.Ю.</i> ...	54

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

Основные итоги Всероссийской научно-практической конференции по медицинской микологии (XIV Кашкинские чтения) в июне 2011 г. <i>Елинов Н.П.</i>	57
Конгрессы и конференции	62
Правила для авторов	63

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES AND REVIEWS

Micromycetes in the connection with problems of biological safety (review). <i>Ozerskaya S.M., Ivanushkina N.E., Kochkina G.A.</i>	3
Morpho-physiological peculiarities of toxin-producing fungi – biodestructors from <i>Stachybotrys</i> genus (review). <i>Dorshakova E.V.</i>	13
Remarkable french scientist - chemist and physician – Louis Camille Maillard (1878–1936). To century of Maillard' reaction. <i>Yelinov N.P.</i>	22

CLINICAL MYCOLOGY

Chronic invasive aspergillosis of mucous membrane maxillary sinus (morphological study). <i>Baydik O. D., Sysolyatin P.G.</i> .	30
Changes in some immunological parameters in patients with atopic dermatitis treated with drug «Gemalin». <i>Mavlyanova Sh.Z., Alimuhamedova Yu.A., Gulyamova G.Sh., Yesionova Ye.V., Muminova S.R.</i>	36
Complex treatment of patient with feet mycoses in adult groups. <i>Imamov O.S.</i>	40

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

Cytokine production by macrophages in the interaction with different virulence <i>Cryptococcus neoformans</i> strains <i>in vitro</i> . <i>Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Frolova E.V., Vasiljeva N.V., Kiseleva E.P.</i>	45
Influence of medical herbs on micromycetes and biological soil activity. <i>Svistova I.D., Paramonov A.Ju.</i>	50
Soil indicator micromycetes species under medical herbs. <i>Svistova I.D., Paramonov A.Ju.</i>	54

CHRONICLE AND INFORMATION

Principal results of the all-Russian scientifically-practical conference in medical mycology (XIV Kashkin readings) in June 2011. <i>Yelinov N.P.</i>	57
Congresses and conferences	62
Rules for authors	63

УДК 616.992:616-057

МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ГРИБЫ В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМАМИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ (ОБЗОР)

Озерская С.М. (зав.лаб.)*,
Иванушкина Н.Е. (с.н.с.), Кочкина Г.А. (с.н.с.)

Всероссийская коллекция микроорганизмов,
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г.К.Скрябина РАН, г. Пущино, Россия

© Коллектив авторов, 2011

Статья посвящена проблемам биобезопасности при работе с патогенными грибами. Представлены характеристики различных категорий опасности и уровней риска. Рассмотрено таксономическое разнообразие патогенных грибов по официальным документам 11 стран мира. Приведены данные о коллекциях микроорганизмов Всемирной федерации коллекций культур (World Federation for Culture Collection – WFCC), поддерживающих культуры патогенных грибов. В статье также представлены результаты анализа разнообразия грибов, которые включены в базу данных Всероссийской коллекции микроорганизмов (VKM), содержащей информацию о 25000 видах грибов – FungalDC (www.vkm.ru).

Ключевые слова: базы данных, коллекции, патогенные грибы, таксономическое разнообразие, уровни риска

MICROMYCETES IN THE CONNECTION WITH PROBLEMS OF BIOLOGICAL SAFETY

Ozerskaya S.M. (head of laboratory),
Ivanushkina N.E. (senior scientific researcher), Kochkina G.A. (senior scientific researcher)

All-Russian Collection of Microorganisms, Skryabin
Institute of Biochemistry and Physiology of
Microorganisms RAS, Pushchino, Russia

© Collective of authors, 2011

The present study describes the problems of biosecurity and biosafety deal with the pathogenic fungi. The characteristics of different categories of pathogenicity and biosafety levels and taxonomic diversity of pathogenic fungi are represented for the official documents of 11 countries. Data about the collections of the microorganisms of the World Federation for Culture Collection (WFCC), which support the cultures of pathogenic fungi, are included. This paper also presents the results of fungal diversity analyses, which included in All-Russian collection (VKM) database that contains near 25000 fungal species from culture collections around the world – FungalDC (www.vkm.ru).

Key words: biosafety levels, culture collections, data base, pathogenic fungi, taxonomic diversity

* Контактное лицо: Озерская Светлана Михайловна
тел.: 8-499-783-24-02

Использование культур микроскопических грибов и в научных исследованиях, и в технологических разработках требует особого внимания к вопросам биологической безопасности. Термин «биобезопасность» в последнее время все чаще упоминают в научной литературе в связи с возрастающими темпами развития микробиологических технологий, а также проблемой возможного использования микроорганизмов в качестве агентов биологического терроризма. При этом русскоязычное определение «биобезопасности» по сути объединяет два понятия, которые переводят на английский как «biosafety» и «biosecurity». «Biosafety» – это защита лабораторного персонала и окружающей среды от вредного случайного воздействия патогенных микроорганизмов, а «biosecurity» – предотвращение несанкционированного специального использования патогенных микроорганизмов, в том числе и с целью создания биологического оружия [1]. Известно, что вопросам биобезопасности в смысле «biosafety» всегда уделяли много внимания. Периодически пересматривают и издают специальные руководства под эгидой Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, World Health Organization, WHO), в том числе и переведенные на русский язык [2, 3]. В последние годы опубликованы руководства и по «biosecurity» [4, 5].

Выполнение условий по обеспечению биобезопасности при работе с микроскопическими грибами необходимо в связи с существующими правилами и нормами, такими как:

- санитарные правила по работе с патогенными и условно-патогенными культурами грибов в лаборатории и их передача в другие учреждения [6, 7];
- карантинные ограничения по ввозу грибов на территорию Российской Федерации и вывозу их за пределы России [8];
- международные обязательства России по нераспространению потенциально опасных грибов, которые могут быть использованы в качестве биологического оружия [9];
- рекомендации по упаковке живых культур мицелиальных грибов и транспортировке их с помощью отечественных и международных почтовых служб [10, 11].

1. ПАТОГЕННЫЕ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ

1.1. Категоризация биологического риска

ВОЗ подразделяет микроорганизмы, включая и микроскопические грибы, на четыре группы в соответствии с уровнем риска, который они представляют для здоровья человека (Biological Safety Level, BSL) – BSL-1, BSL-2, BSL-3 и BSL-4 [12]. При этом для каждого отдельного государства или конкретного региона Земного шара рекомендовано проводить обязательную разработку собственной национальной или региональной классификации микроорганизмов по группам биологического риска, которая

должна учитывать [2]:

- патогенность организма;
- пути передачи инфекции и специфику организма-хозяина. Существенную роль при этом играют существующие уровни иммунизации местного населения, плотность и перемещение инфицированного населения, наличие соответствующих переносчиков инфекции и нормы санитарного состояния окружающей среды;
- доступность и эффективность профилактических мероприятий на местах. К ним относят: профилактику путем активной и пассивной иммунизации, санитарные мероприятия, контроль за переносчиками инфекции – животными и членистоногими;
- доступность эффективного лечения на местах – пассивная иммунизация, вакцинация после инфицирования, использование противомикробных и химиотерапевтических средств с учетом возможности появления резистентных штаммов.

Определения категорий биологического риска, принятые в различных странах и разными международными организациями, связанными с этой проблемой, различаются незначительно, поэтому здесь мы приводим их в том виде, как они представлены Всемирной организацией здравоохранения.

Группа риска 1 (BSL-1): отсутствует или низкий уровень риска для человека и человеческой популяции. Микроорганизмы, не способные вызывать заболевания человека и животных

Группа риска 2 (BSL-2): средний уровень риска для человека, низкий уровень риска для человеческой популяции. Патогены, способные вызывать заболевания человека и животных, но не представляющие серьезной угрозы для здоровья лабораторного персонала, человеческой популяции, домашних животных и окружающей среды. Экспонирование агента в лаборатории может вызывать серьезную инфекцию, но эффективное лечение и профилактические меры доступны, а риск распространения инфекции ограничен.

Группа риска 3 (BSL-3): высокий уровень риска для человека, низкий уровень риска для человеческой популяции. Патогены, которые обычно вызывают серьезные заболевания человека и животных, но не передаются обычным путем от одного заболевшего организма к другому. Доступны эффективная профилактика и лечение заболевания.

Группа риска 4 (BSL-4): высокий уровень риска для человека и для человеческой популяции. Патогены, обычно вызывающие серьезные заболевания человека и животных, легко передающиеся от одного организма к другому, прямыми или косвенными путями. Доступных способов эффективной профилактики и лечения обычно нет.

Аналогичные документы существуют и в Российской Федерации. Они разработаны учреждениями Министерства здравоохранения и Госкомсанэпиднадзора РФ [6,7] на основе выделения групп патогенности (опасности) различных видов микроорганизмов.

Группа I: возбудители особо опасных инфекций.

Группа II: облигатные патогены, эндемичные виды, возбудители глубоких микозов человека.

Группа III: условно-патогенные организмы, вызывающие оппортунистические микозы (системные микозы) при понижении иммунного статуса человека.

Группа IV: условно-патогенные организмы, возбудители поверхностных микозов (дерматомицеты).

При сравнении приведенных выше определений уровней биологического риска (BSL 1-4) и групп патогенности можно сразу сделать вывод об обратной нумерации групп по степени опасности российских и международных документов. Самые опасные организмы помещены в первую группу патогенности по российскому законодательству и соответствуют четвертому уровню биологического риска (BSL-4) по определению ВОЗ.

При разработке последнего по времени Закона о биологической безопасности РФ в текст его проекта была заложена категоризация патогенных микроорганизмов, соответствующая международным принципам – от 1-й, включающей самых слабых в этом отношении видов микроорганизмов, до 4-й – самой опасной. Однако при дальнейших обсуждениях проекта стало ясно, что изменение порядка категорий патогенности в России влечет за собой необходимость изменения такого множества подзаконных актов, что пока было решено оставить категоризацию групп патогенности в прежнем виде.

1.2. Таксономическое разнообразие патогенных грибов

Одним из довольно существенных направлений прикладной микологии становится обеспечение биологической безопасности человека посредством предоставления максимально полной информации всем заинтересованным исследователям об опасности, которая может быть связана с мицелиальными грибами. В лаборатории мицелиальных грибов Всероссийской коллекции микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина РАН (ВКМ ИБФМ РАН) ведется постоянная работа по поддержанию и обновлению базы данных о патогенных для человека, животных и растений видах грибов с учетом появления новых сведений. Регулярно анализируют информацию, опубликованную в нормативных документах разных стран по биологической безопасности, связанной с микроорганизмами, включая мицелиальные и дрожжевые грибы. Исследуют таксономическое разнообразие патогенных и условно-патогенных микроскопических грибов, упомянутых в перечнях патогенных организмов из различных источников, включая справочники и специализированные базы данных США, Японии, Германии, Бельгии, Европейского сообщества и других.

Обобщенные данные о разнообразии патогенных и условно-патогенных грибов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Таксономическое разнообразие патогенных грибов

Царство	Подцарство	Число видов	Число родов
Chromista	Oomycota	3	2
Fungi	Zygomycota	352	19
Fungi	Basidiomycota	507	33
Fungi	Ascomycota	12399	221

Основную часть этой группы грибов относят к сумчатым грибам и их анаморфам (табл. 2).

Таблица 2

Патогенные и условно-патогенные грибы сумчатого аффинитета

Классы	Число видов	Число родов
<i>Dothideomycetes</i>	2635	40
<i>Eurotiomycetes</i>	2789	47
<i>Incertae sedis</i>	59	22
<i>Leotiomycetes</i>	29	8
<i>Pezizomycetes</i>	1	1
<i>Pneumocystidomycetes</i>	2	1
<i>Saccharomycetes</i>	1007	42
<i>Sordariomycetes</i>	5877	60

По данным разных авторов, общее количество видов, относимых к патогенным формам, сравнительно различно, но оно быстро возрастает со временем, и сейчас уже насчитывают, по нашим данным, более тысячи видов.

Особый интерес для исследователей в области медицинской микологии могут представлять сведения о том, насколько велико разнообразие чистых культур патогенных и условно-патогенных грибов, поддерживаемых в специализированных коллекциях и доступных для заинтересованных пользователей. Типовые и аутентичные культуры могут быть использованы для проведения сравнительных тестов при диагностических исследованиях или для выполнения каких-либо других лабораторных работ прикладного характера. Оценка таксономического разнообразия культивируемых и поддерживаемых в коллекциях патогенных грибов была проведена сотрудниками ВКМ на основе общего разнообразия фонда грибов в коллекциях WFCC (Всемирная Федерация Коллекций Культур, World Federation for Culture Collections), сведения о которых поддерживаются в WDCM (Всемирный Центр Данных о Микроорганизмах, World Data Center of Microorganisms) [13].

В настоящее время (на 16.05.2011 г.), по сведениям WDCM, во Всемирной Федерации Коллекций Культур зарегистрирована 553591 коллекция культур из 68 стран. Дополнительно была проанализирована информация о 42 коллекциях микроорганизмов, которые не вошли пока в WFCC, но объявили в сети Интернет о своем существовании. Таким образом, число коллекций, фонды которых были приняты во внимание при выполнении данной работы, составило 595. Большая часть коллекций (386 из 595) имеет в своем составе мицелиальные грибы и дрожжи, хотя списки поддерживаемых видов представлены в ката-

логах только 261 коллекции [14, 15].

Можно отметить, что база данных WDCM не полностью отражает видовое разнообразие грибов, имеющееся в коллекциях членов WFCC. Часть данных, по-видимому, давно не обновляли, некоторые коллекции сведения о своих фондах размещают лишь на собственных WEB-сайтах, не передавая их в WDCM. В связи с этим проведенным дополнительным поиском информации о фондах коллекций в сети Интернет получены более полные сведения. Еще один недостаток базы данных WDCM заключается в том, что видовые названия приведены в ней без проверки правильности их написания, в том виде, как их представили. В результате доступные списки фондов изобилуют неточностями, связанными как с ошибками в написании, так и с последствиями некачественного распознавания сканированных печатных текстов. В связи с этой проблемой провели работу по уточнению написания, а также современного таксономического и номенклатурного статуса видов грибов. В результате была разработана база данных поддерживаемых в различных коллекциях мира видов мицелиальных грибов и дрожжей [16], размещенная на WEB-сайте ВКМ (www.vkm.ru). Открытый доступ к ней дает возможность пользователям в режиме on-line отыскать среди множества коллекционных каталогов культуры, необходимые для решения конкретных задач. Такая база данных в настоящее время содержит около 25000 наименований грибов и дрожжей с учетом их одновременной встречаемости в различных коллекциях и соответствия синонимов действительным (валидным) наименованиям.

Таксономическое разнообразие грибов в коллекциях различается довольно значительно. Это зависит, на наш взгляд, от нескольких факторов, в число которых могут входить такие, как степень изученности того или иного таксона, простота выделения в чистой культуре, последующее хранение и т.д. Наибольшее разнообразие видов микроскопических грибов поддерживается в CBS (Голландия), ATCC (США), MUCL (Бельгия), CABI (Великобритания) (табл. 3).

Таблица 3

Коллекции, поддерживающие наибольшее разнообразие патогенных грибов

Название коллекции	Акроним	Страна	WEB адрес
Mycothèque de l'Université catholique de Louvain	MUCL	Бельгия	http://bccm.belspo.be/about/mucl.php
CABI Bioscience Genetic Resource Collection	IMI	Великобритания	www.cabi.org
Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH	DSMZ	Германия	www.dsmz.de
Centro di Micologia del Terreno	CMT	Италия	www.csmt.to.cnr.it
Fredericton Stock Culture Collection	FSC	Канада	www.cfs.nrcan.gc.ca
Centraalbureau voor Schimmelcultures	CBS	Нидерланды	www.cbs.knaw.nl

American Type Culture Collection	ATCC	США	www.atcc.org
Fungal Strain Collection, Laboratory of Cryptogamy	LCP	Франция	www.mnhn.fr
Culture Collection of Basidiomycetes	CCBAS	Чехия	biomed.cas.cz
Institute for Fermentation, Osaka	IFO	Япония	www.ifo.or.jp

ВКМ ИБФМ РАН (регистрационный номер в WFCC-342) по разнообразию поддерживаемого фонда условно-патогенных грибов является пятой в Европе и занимает седьмое место в мире.

При рассмотрении вопроса о таксономическом разнообразии как имеющихся списков патогенных видов, так и представленности этих видов в коллекционных фондах, необходимо иметь в виду тот факт, что в разных документах и каталогах один и тот же вид может одновременно поддерживаться под разными наименованиями, которые могут соответствовать различным стадиям жизненного цикла (табл. 4) или являться синонимами одного вида (табл. 5).

Таблица 4

Категоризация грибов по разным стадиям жизненного цикла

Название телеоморфы	Группа патогенности	Название анаморфы	Группа патогенности
<i>Arthroderma gertleri</i>	–/IV	<i>Trichophyton vanbreuseghemii</i>	III/IV
<i>Arthroderma glorieae</i>	–	<i>Trichophyton glorieae</i>	III/IV
<i>Debaryomyces hansenii</i> var. <i>fabryi</i>	IV	<i>Candida famata</i> var. <i>flareri</i>	–
<i>Eurotium herbariorum</i>	–	<i>Aspergillus glaucus</i>	III/IV
<i>Hypocrea aurantiaca</i>	–	<i>Trichoderma viride</i>	III/IV

Таблица 5

Категоризация разных синонимов одного вида для грибов

Современное название	Группа патогенности	Синоним	Группа патогенности
<i>Cunninghamella elegans</i>	–/OP	<i>Cunninghamella bertholletiae</i>	III/IV
<i>Mycocladius corymbifer</i>	0	<i>Absidia corymbifera</i>	III
<i>Rhizopus stolonifer</i> var. <i>stolonifer</i>	III/IV	<i>Rhizopus nigricans</i>	–

Интересная ситуация возникает когда один и тот же организм имеет названия и разных стадий – телеоморфы и анаморфы, и названия их синонимов (табл. 6).

Таблица 6

Варианты представления одного гриба в каталогах разных коллекций

Название телеоморфы	Группа патогенности	Название анаморфы	Группа патогенности
<i>Pseudallescheria boydii</i>	III/IV	<i>Scedosporium apiospermum</i>	III/IV
Synonym <i>Allescheria boydii</i>	0	Synonym <i>Monosporium apiospermum</i>	0

Эту проблему решают доступные в Интернете специализированные базы данных по номенклатуре и таксономии грибов, в которых приводятся все известные синонимы различных видов грибов, их авторы и соответствующая библиография: Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>), база данных CBS (www.cbs.knaw.nl), MycoBank (www.mycobank.org). При использовании материалов этих баз данных удастся оценить объем видового разнообразия отдельных групп грибов. Необходимость решения проблемы использования при категоризации риска различных названий одних и тех же организмов привела к принятию Европейским Союзом специальной Директивы [17], в которой указано, что в официальных списках патогенных видов необходимо применять только современные данные по таксономии и номенклатуре. Это очень существенно, поскольку избавляет пользователя от необходимости сопоставления новых и уже давно устаревших названий.

1.3. Списки патогенных и условно-патогенных грибов

Известно, что списки патогенных и условно-патогенных мицелиальных грибов и дрожжей крайне неоднородны и различаются в нормативных документах различных государств и их объединений – Европейского Союза [17], Великобритании [18], Канады [19], (США [20], Бельгии [21], Сингапура [22], Швейцарии [23], Германии [24], Австралии [25] и других. При этом количество включенных в эти списки видов грибов варьирует от нескольких десятков [17, 19] до сотен [23] и тысяч [7].

Списки патогенных видов грибов, включенные в российские правила Госсанэпиднадзора 2003 года [6], были хорошо известны, поскольку их не изменяли в течение многих лет с 1980 года [26]. В последнее время эта ситуация изменилась, и в настоящее время в России действуют новые официальные списки патогенных грибов [7]. В результате нового подхода к их формированию, а именно – включения не отдельных видов, а родов грибов целиком (*Penicillium* spp., *Trichoderma* spp. и т.д.), четвертая группа патогенности возросла по числу видов во много раз. Тем не менее, например, такой вид как *Filobasidiella bacillispora*, в список патогенов не включен в Атласе патогенных грибов, хотя он указан с уровнем BSL-2 [27].

Рассмотрим далее таксономический состав групп патогенности и соответствующих им категорий уровней риска для мицелиальных грибов и дрожжей. Объем данного обзора не охватывает все имеющиеся в мире классификации патогенных грибов, поэтому здесь приведены наиболее распространенные и разнообразные списки, принятые в странах, наиболее активно проводящих исследования по проблемам биобезопасности.

Группа I (BSL-4). Возбудителей особо опасных инфекций, которые могли бы войти в первую группу патогенности, среди грибов нет.

Здесь и далее мы будем придерживаться российской нумерации групп патогенности, приводя соответствующие им номера категорий по уровню риска в скобках.

Группа II (BSL-3). Во вторую группу патогенности обычно включают небольшое число видов микроскопических грибов, вызывающих глубокие микозы, такие как бластомироз, кокцидиоидомикоз, гистоплазмоз и паракокцидиоидомикоз [7]. Разнообразие данной группы по нормативным документам, опубликованным в разных странах (табл. 7), довольно невелико и включает в общей сложности 9 родов, 18 видов и вариантов. Однако, даже при таком небольшом объеме включенных таксонов, можно видеть разные подходы к определению понятия уровня биологического риска. Так, только в некоторых странах считают грибы вида *Penicillium marneffei*, а также родов *Cryptococcus*, *Cladophialophora*, *Dactylaria* и *Rhinocladiella* организмами с уровнем биологического риска BSL-3. Названия видов данной группы, включенные в более чем 80% рассматриваемых списков, выделены жирным шрифтом.

Таблица 7

Разнообразие патогенных грибов второй группы патогенности, соответствующей уровню риска BSL-3*												
Виды грибов	Страны**											%
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	V	V	V	V	V	V	V		V		V	81,8
<i>Cladophialophora arxii</i>						V			V			18,2
<i>Cladophialophora bantiana</i>		V		V	V	V	V					45,5
<i>Cladophialophora carrionii</i>							V					9,1
<i>Cladophialophora devriesii</i>				V								9,1
<i>Coccidioides immitis</i>	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	100,0
<i>Coccidioides posadasii</i>	V											9,1
<i>Cryptococcus neoformans</i>				V								9,1
<i>Cryptococcus gattii</i> (syn. <i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i>)		V		V								18,2
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubii</i>				V								9,1
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>		V		V								18,2
<i>Dactylaria gallopava</i>						V						9,1
<i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i>	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	100,0

<i>Histoplasma dubosii</i> (syn. <i>H. capsulatum</i> var. <i>dubosii</i>)			V	V	V	V	V	V			V	63,6
<i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>farciminosum</i>					V	V	V					27,3
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	V	V	V	V	V	V	V		V		V	81,8
<i>Penicillium marneffei</i>		V		V	V				V			36,4
<i>Rhinocladiella mackenziei</i>						V						9,1

*-BSL 3 - высокий уровень риска (грибы, вызывают тяжелые заболевания, имеющие высокую степень риска по распространению, но поддающиеся профилактике и лечению). В эту группу внесены инфекционные формы диморфных возбудителей эндемических микозов, криптококкоза и редкие нейротропные возбудители феогифомикоза.

** - Названия стран:

1. Российская федерация, 2008 [7]
2. Великобритания, 2004 [18]
3. Европейский Союз, 2000 [17]
4. Швейцария, 2004 [23]
5. Сингапур, 2004 [22]
6. Бельгия, 2006 [21]
7. Германия, 2001 [24]
8. США, 2002 [29]
9. Нидерланды, 2000 [27]
10. Южная Корея, 2005 [28]
11. Канада, 1996 [19].

Группа III (BSL-2). Видов грибов третьей и четвертой групп патогенности, указанных в данной категории, значительно больше, чем в группе II, и составляет 167 родов, 437 видов и вариантов для третьей группы. Специалисты из США и Южной Кореи включают в эту группу не только возбудителей глубоких микозов, но и широко известных дерматомицетов, таких как *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp., *Trichophyton* spp. и *Candida* spp., т.е. все виды данных родов [28, 29]. В базе данных Index Fungorum [30] на 14.06.2009 указано, что число всех известных видов для этих родов составляет, соответственно, 47, 107, 258 и 715 наименований, что приводит к возрастанию количества видов грибов с уровнем биологического риска BSL-2 на 1127 единиц.

Группа IV (BSL-1). Таксономическое разнообразие этой группы наиболее резко различается в анализированных нами источниках. В некоторых из исследованных нами документах по категоризации риска в части грибов указано, что к данной группе относят все без исключения мицелиальные грибы и дрожжи, не включенные в предыдущие более опасные категории. Такая позиция нашла отражение в списках Великобритании [18], Европейского Союза [17]. Другие списки содержат очень подробное перечисление видов условно-патогенных грибов. Общее разнообразие четвертой группы составляет 260 ро-

дов, 818 видов и вариантов. Согласно новым правилам, введенным в действие на территории России с 1 мая 2008 года [7], некоторые роды грибов включены целиком (табл. 8), что приводит к еще большему увеличению объема данной категории.

Таблица 8

Объем родов грибов, которые полностью включены в III и IV группы патогенности

Род	Число известных видов*	Род	Число известных видов*
<i>Absidia</i>	85	<i>Microascus</i>	45
<i>Acremonium</i>	194	<i>Microsporium</i>	107
<i>Alternaria</i>	625	<i>Mucor</i>	698
<i>Aspergillus</i>	824	<i>Ochroconis</i>	11
<i>Basidiobolus</i>	13	<i>Onychocola</i>	5
<i>Candida</i>	715	<i>Paecilomyces</i>	138
<i>Chaetomium</i>	403	<i>Penicillium</i>	1094
<i>Chrysosporium</i>	88	<i>Phaeoacremonium</i>	26
<i>Cladophialophora</i>	22	<i>Phialemonium</i>	3
<i>Conidiobolus</i>	71	<i>Phialophora</i>	84
<i>Cryptococcus</i>	311	<i>Phoma</i>	3212
<i>Curvularia</i>	113	<i>Pyrenochaeta</i>	155
<i>Emmonsia</i>	7	<i>Ramichloridium</i>	34
<i>Epidermophyton</i>	47	<i>Rhizomucor</i>	11
<i>Exophiala</i>	36	<i>Rhizopus</i>	156
<i>Fonsecaea</i>	10	<i>Scopulariopsis</i>	102
<i>Fusarium</i>	1325	<i>Scytalidium</i>	22
<i>Geotrichum</i>	121	<i>Trichoderma</i>	152
<i>Leptosphaeria</i>	1614	<i>Trichophyton</i>	258
<i>Madurella</i>	16	<i>Trichosporon</i>	118
<i>Malassezia</i>	19	<i>Ulocladium</i>	27

*-по данным базы данных Index Fungorum

Все перечисленные выше подходы к формированию данной группы патогенных грибов, по-видимому, имеют право на существование, поскольку преследуют одну цель – максимальное ее расширение. Это связано с тем, что в современной экологической ситуации практически невозможно предсказать, какие микроорганизмы, в том числе и грибные, ранее никогда не упоминавшиеся в связи с возникновением инфекционных заболеваний, при создании определенных условий в совокупности с ослабленной иммунной системой человека, могут оказаться серьезными патогенами. В связи с тем, что для проведения работ с организмами I-IV групп патогенности необходимо получение специальной лицензии [31], информация о включенных в официальные списки грибных таксонах имеет большое значение.

2. ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ

2.1. Обеспечение безопасности при работе с патогенными грибами

В свете обеспечения биологической безопасности включение работ с патогенными и условно-патоген-

ными грибами в лицензионную сферу в значительной степени обеспечит упорядочение системы деятельности и развития микологических лабораторий различного профиля. Постановлением Правительства Российской Федерации (№ 31 от 22 января 2007 г.) было утверждено «Положение о лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний», которое касается и юридических лиц, и индивидуальных предпринимателей. Такую лицензию выдают исключительно тем организациям, которые осуществляют работу, связанную как с проведением исследований, так и с отбором образцов, зараженных или с подозрением на зараженность возбудителями инфекционных заболеваний I-IV групп патогенности [31].

По этому Положению для получения лицензии на право работы с микроорганизмами, относящимися к I-IV группам патогенности, необходимо соответствии следующим условиям:

а) соискатель лицензии должен на законном основании иметь помещения, оборудование и другое материально-техническое оснащение, отвечающее требованиям, Федерального закона «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», санитарным правилам и иным нормативным правовым актам Российской Федерации; в качестве подтверждения необходимо иметь заключение Роспотребнадзора о возможности работы с микроорганизмами 1-4 групп патогенности;

б) руководитель организации (структурного подразделения) или его заместитель (это касается и индивидуального предпринимателя или руководителя фирмы) должен иметь высшее или среднее профессиональное образование (медицинское или биологическое) и соответствующую подготовку по специальностям «бактериология», «вирусология», «паразитология», «микробиология»;

в) в штате должны быть специалисты, имеющие высшее или среднее профессиональное образование (медицинское, биологическое) и прошедшие соответствующую подготовку по специальностям «бактериология», «вирусология», «паразитология», «микробиология»*;

г) повышение квалификации специалистов необходимо проводить не реже одного раза в 5 лет;

д) должны соблюдаться правила, установленные Федеральным законом «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», санитарными правилами и иными нормативными правовыми актами Российской Федерации требований по обеспечению безопасности работ, проводимых с возбудителями инфекционных заболеваний.

В Российской Федерации в последние годы идет активная работа по обеспечению законодательной базы в области безопасности. Перечень основной

* Примечание главного редактора журнала: Микробиология объединяет все микробные объекты: вирусы и прионы (бактерии) грибы одноклеточные (микроскопические) водоросли, протисты.

Перечень официальных документов, определяющих порядок осуществления деятельности, связанной с использованием грибных возбудителей инфекционных заболеваний II-IV групп патогенности

1.	Федеральный Закон от 30.03.1999г. № 52-ФЗ «О санитарно – эпидемиологическом благополучии населения».
2.	Федеральный Закон от 08.08.2001г. № 128-ФЗ «О лицензировании отдельных видов деятельности».
3.	Постановление Правительства Российской Федерации от 22.01.2007 г. № 31 Об утверждении Положения о лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний.
4.	СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
5.	СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности».
6.	СП 1.1.058-01 «Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно – противоэпидемических (профилактических) мероприятий».
7.	СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности».
8.	СанПиН 2.1.728-99 «Правила сбора, хранения, удаления отходов в лечебно – профилактических учреждениях».
9.	СанПиН 2.2.4.548-96 «Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений».
10.	ГН 2.2.6.2178-07 «Предельно – допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов – продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны».
11.	ГН 2.1.6.2177-07 «Предельно – допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов – продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в атмосферном воздухе населенных мест».
12.	ГН 2.1.6.1338-03 «Предельно допустимые концентрации загрязняющих веществ в атмосферном воздухе».
13.	ГН 2.2.5.1314-03 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия вредных веществ в воздухе рабочей зоны».
14.	Р 3.5.1904-04 Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях».
15.	МУ 2.1.4.1057-01 «Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды».
16.	МУ 1.3.1888-04 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическим агентами III–IV групп патогенности».
17.	МУ 1.3.1794-03 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного микроорганизмами I–II групп патогенности».
18.	МУ 3.5.5.1034-01 «Обеззараживание исследуемого материала, инфицированного бактериями I–II групп патогенности, при работе методом ПЦР».
19.	МУК 4.2.1990-05 «Контроль удаления воздуха в паровых стерильных камерах».
20.	МУК 4.2.1991-05 «Контроль соблюдения условий паровой стерилизации растворов питательных сред с применением химических индикаторов».
21.	МУК 4.2.1054-01 «Измерение концентраций микроорганизмов – продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в атмосферном воздухе населенных мест».
22.	МР 0100/3556-04-34 «Взаимодействие органов управления, учреждений и специализированных формирований при ликвидации последствий террористических актов с применением патогенных биологических агентов и опасных химических веществ».
23.	«Инструкция по эксплуатации и контролю эффективности вентиляционных устройств на объектах здравоохранения №1231-75».
24.	Приказ МЗ РФ № 555 от 29.09.88 г. «О совершенствовании системы медицинских осмотров трудящихся и водителей индивидуальных транспортных средств».
25.	Приказ № 90 от 14.03.96 г. Министерства Здравоохранения и медицинской промышленности РФ «О порядке проведения предварительных и периодических медицинских осмотров и медицинских регламентах допуска к профессии».
26.	Приказ МЗ и социального развития РФ от 16.08.2004г. № 83 «Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и порядка проведения этих осмотров (обследований)».

нормативной документации по данной проблеме приведен в таблице 9 (www.rospotrebnadzor-rt.ru/dokword/bad250309.htm).

2.2. Транспортировка потенциально опасных культур грибов

В практике работы многие исследователи сталкиваются с проблемой пересылки своих культур по обмену с другими специалистами как в России, так и за рубеж. Очевидно, что при транспортировке патогенных и условно-патогенных культур грибов необходимо обеспечивать надлежащие гарантии безопасности для людей, вовлеченных в этот процесс (включая административный, технический и любой другой обслуживающий персонал), также как и для растений, животных и окружающей среды. Поэтому каждый, кто намеревается использовать отечественные или международные почтовые службы, должен быть абсолютно полно ознакомлен с различными правилами и положениями, регулируемыми транспортировку биологического материала.

Что касается порядка передачи микроорганизмов (включая грибы) внутри страны, то известно, что все культуры микроорганизмов передаются из одного учреждения в другое по официальному требованию за подписью руководителя учреждения, скрепленному гербовой печатью. Названия всех требуемых культур при этом указывают согласно принятой биномиальной номенклатуре. Культуры микроорганизмов III и IV групп патогенности могут быть выданы нарочному, ознакомленному предварительно с порядком обращения с ними, или отправлены почтой. Культуры I и II групп патогенности перевозят только курьеры с соблюдением всех мер предосторожности.

Порядок передачи микроорганизмов в зарубежные страны регламентируется в настоящее время довольно строго. Культуры могут быть переданы за рубеж при наличии официального запроса и разрешения различных официальных служб на их пересылку.

Сотрудник(и) веринарной лаборатории, обязательно зарегистрированной в местном (городском

Список грибов, патогенных для человека, животных и растений, подлежащих экспортному контролю (утвержден Указом Президента Российской Федерации от 20.08.2007 г. № 1083)

№ позиции	Наименование	Код ТН ВЭД*
Раздел 1. Микроорганизмы, патогенные для человека, и токсины		
1.4.	Природные, усовершенствованные или модифицированные грибы в виде выделенных живых культур, а также материалы, включая живые, инфицированные этими культурами	
1.4.1.	<i>Coccidioides immitis</i>	3002 90 500 0
1.4.2.	<i>Coccidioides posadasii</i>	3002 90 500 0
Раздел 2. Микроорганизмы, патогенные для животных (грибов нет)		
Раздел 3. Микроорганизмы, патогенные для растений		
3.3.	Природные, усовершенствованные или модифицированные грибы в виде выделенных живых культур, а также материалы, включая живые, инфицированные этими культурами	
3.3.1.	<i>Colletotrichum coffeanum</i> var. <i>virulans</i> (синоним - <i>Colletotrichum kahawae</i>)	3002 90 500 0
3.3.2.	<i>Cochliobolus miyabeanus</i> (синоним - <i>Helminthosporium oryzae</i>)	3002 90 500 0
3.3.3.	<i>Microcyclus ulei</i> (синоним - <i>Dothidella ulei</i>)	3002 90 500 0
3.3.4.	<i>Puccinia graminis</i> (синоним - <i>Puccinia graminis f. sp. tritici</i>)	3002 90 500 0
3.3.5.	<i>Puccinia striiformis</i> (синоним - <i>Puccinia glumarum</i>)	3002 90 500 0
3.3.6.	<i>Magnaporthe grisea</i> , <i>Pyricularia grisea</i> / <i>Pyricularia oryzae</i>	3002 90 500 0

или областном) департаменте ветеринарии, может (-гут) намереваться отправить по почте такую культуру из I–IV группы. При наличии регистрационного удостоверения на каждую партию культур оформляют ветеринарный сертификат. Для ограничения распространения карантинных объектов, в соответствии со списками международных организаций защиты растений, работают службы карантина растений. Свидетельством того, что отправляемые культуры не являются карантинными объектами для той страны, в которую они отправляются, является фитосанитарный сертификат.

При наличии данных сертификатов соответствующие службы ветеринарного и фитосанитарного контроля таможенного поста разрешают выпуск партии культур, поставив необходимые печати на международной декларации, которую оформляют для разрешения выпуска посылки со стороны таможни.

Для прохождения таможенного контроля обязательно оформление пакета документов от имени организации, отправляющей культуру. Получение разрешения таможни требуется в связи с ратифицированными Россией международными соглашениями по нераспространению культур микроорганизмов, использование которых может привести к созданию биологического оружия. Известно, что еще в 1985 году была организована неофициальная международная ассоциация государств, названная «Австралийской группой» по месту проведения ее первого совещания. Целью данной организации было провозглашено всемерное ограничение распространения биологического и токсинного оружия. В связи с поставленной задачей членам Австралийской группы удалось достичь понимания необходимости общего подхода к процедурам контроля экспорта биологических объектов так называемого «двойного действия». Это микроорганизмы и генетические материалы, которые, помимо того, что являются возбудителями заболеваний и применяются для вакцинаций и лечебных целей, способны нанести существенный вред в качестве биологического и токсинного оружия. Мицелиальные грибы представлены только в третьем разделе данного списка – «Патогены, опасные для растений». В положении, принятом членами данной группы, указано, что культуры этих грибов не могут вывозиться из страны без лицензирования в органах таможенного контроля. Правительство России, которая не является членом Австралийской группы, тем не менее, поддержало эту инициативу и приняло специальное постановление о порядке экспорта микроорганизмов двойного действия. Список микроорганизмов, токсинов, оборудования и технологии, подлежащих экспортному контролю, утвержден Указом Президента Российской Федерации от 20 августа 2007 г. № 1083 (табл. 10).

Кроме этого, пересылаемые культуры грибов не должны входить в Список патогенов растений (List of Plant Pathogens for Export Control), распространение которых контролируется государствами Австралийской группы (Australian Group) в связи с Конвенцией по запрещению химического и биологического оружия (табл.11) (www.australiagroup.net/en/plants.html).

Таблица 11

Список грибов – патогенов растений для экспортного контроля (List of Plant Pathogens for Export Control), апрель 2005

1.	<i>Colletotrichum coffeanum</i> var. <i>virulans</i> (<i>Colletotrichum kahawae</i>)
2.	<i>Cochliobolus miyabeanus</i> (<i>Helminthosporium oryzae</i>)
3.	<i>Microcyclus ulei</i> (syn. <i>Dothidella ulei</i>)
4.	<i>Puccinia graminis</i> (syn. <i>Puccinia graminis f. sp. tritici</i>)
5.	<i>Puccinia striiformis</i> (syn. <i>Puccinia glumarum</i>)
6.	<i>Pyricularia grisea</i> / <i>Pyricularia oryzae</i>

Виды грибов, поименованные в данном списке, не разрешается вывозить в государства, нарушающие Конвенцию «О запрещении разработки, производства и накопления запасов биологического и токсинного оружия и об их уничтожении» от 10.04.1972 г. и Женевский протокол «О запрещении применения на войне удушливых, ядовитых или других подобных газов и бактериальных средств» от 17.06.1925 г. Незаконный экспорт микроорганизмов из этого списка

* Код ТН ВЭД — код товарной номенклатуры внешнеэкономической деятельности Российской Федерации

преследуется в уголовном порядке (Статья 189, УК РСФСР) [32].

Свидетельством того, что отправляемые культуры не входят в вышеперечисленные списки, считают Акт независимой идентификационной экспертизы, которую проводят различные ведомства, в том числе и Федеральная служба по техническому и экспортному контролю (ФСТЭК РФ). Для получения такого акта нужно предварительно подготовить паспорт культуры и описание образца, из которого данная культура выделена. В случае необходимости пересылки опасных патогенов необходимо получить разовую лицензию на вывоз их за пределы России.

Если вся процедура получения разрешений и согласований на пересылку культур проведена правильно, то можно приступать к упаковке культур и отправке их посредством почтовых служб. При этом необходимо учитывать правила ввоза культур микроорганизмов того государства, в которое отправляется посылка. В некоторые страны (Канада, Италия и др.) необходимы вложения собственных разрешительных сертификатов, которые должны быть получены предварительно от заказчика. В противном случае, посылка дальше таможенного поста страны назначения не пройдет.

При упаковке биологического материала требуется строгое соблюдение правил, предусмотренных статьями 118-120 исполнительного регламента Всемирной почтовой конвенции. Всемирный почтовый союз (УРУ) объединяет национальные почтовые службы разных государств. Последняя редакция Всемирной почтовой конвенции была принята в 1994 году на XXI Всемирном почтовом конгрессе в Сеуле (Южная Корея) и вступила в силу в России 19.04.1996 г. [33]. Конвенцией узаконены среди прочих и подробные «Правила для транспортировки неинфекционных скоропортящихся биологических

объектов (NPBS) и инфекционных скоропортящихся биологических объектов (IPBS) почтовыми службами». Согласно Статье 24 Конвенции, все виды скоропортящихся биологических объектов, собранные и упакованные с учетом положений Подробных правил, должны быть оформлены как заказные и ценные письма. Обмен этими объектами ограничен только теми странами, почтовые ведомства которых заявили свою готовность пропускать такие отправления, либо только в одном направлении, либо в оба конца (туда и обратно). При этом обмен может быть произведен только между официально зарегистрированными лабораториями. Ограничения по импорту и экспорту NPBS или IPBS, которые имеют национальные почтовые службы различных стран, опубликованы Международным Бюро (International Bureau of the UPU) при Всемирном почтовом союзе в Берне.

В заключение необходимо отметить, что в данном обзоре кратко рассмотрены лишь основные вопросы, имеющие прямое отношение к рассматриваемой теме. В одном сообщении невозможно охватить весь комплекс проблем, возникающий при решении задач биологической безопасности, связанной с использованием в работе мицелиальных грибов и дрожжей. Всероссийская коллекция микроорганизмов ИБФМ РАН постоянно отслеживает всю информацию по нормативным и регламентирующим документам, относящуюся к микроскопическим грибам, и готова предоставить ее всем заинтересованным пользователям.

Публикация была подготовлена в процессе выполнения работ по контракту №. 16.518.11.7035 (ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы», мероприятие 1.8).

Работа была поддержана программой МКБ Президиума РАН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Озерская С.М., Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А. Патогенные грибы: категоризация биологического риска и разнообразие. В сб. «Микология сегодня». Под ред. Ю.Т.Дьякова и Ю.В.Сергеева. М.:Национальная академия микологии. Издательство «МДВ», 2007. – С.268-282.
2. *Laboratory biosafety manual*, 3rd edition. Geneva: World Health Organization, 2004. – 178 p. (http://www.who.int/csr/delibepidemics/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en)
3. *Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях*. (3-е издание). Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2004. – 201 с. (http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11w)
4. *Biorisk management: Laboratory biosecurity guidance*. Geneva, World Health Organization, 2006. – 41 p. (http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_EPR_2006_6/en)
5. *OECD best practice guidelines for biological resource centres. Best practice guidelines on biosecurity for BRCs*. OECD, 2007a. – P. 45-57.
6. *Санитарно-эпидемиологические правила*. СП 1.3.1318-03. Порядок выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I-IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами. М.:Госкомсанэпиднадзор РФ, 2003. – 39 с.
7. *Санитарно-эпидемиологические правила*. СП 1.3.2322-08. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. М.:Госкомсанэпиднадзор РФ, 2008. – 57 с.
8. *Перечень вредителей, возбудителей болезней растений, сорняков, имеющих карантинное значение для Российской Федерации (Утвержден МСХ РФ в 2003 г.)* (http://www.sevin.ru/invasive/law/quarantine_list.html)
9. *Список возбудителей заболеваний (патогенов) человека, животных и растений, генетически измененных микроорганизмов, токсинов, оборудования и технологий, подлежащих экспортному контролю*. Указ Президента РФ от 08 августа 2001 г. № 1004. (http://www.tamognia.ru/laws/law_62.html)

10. Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Озерская С.М. Транспортировка потенциально опасных культур грибов // Микология и фитопатология. – 1997. – Т.31, вып.4. – С. 62-71.
11. *International Regulations for Packaging and Shipping of Microorganisms*. EBRCN Information resource. 2008. – 7 p.
12. *OECD best practice guidelines for biological resource centres*. Best practice guidelines on biosecurity for the micro-organism domain. OECD, 2007b. – P. 58-68.
13. *World Data Center of Microorganisms statistics*, 2009. (<http://wdcm.nig.ac.jp/statistics.html>)
14. Елинов Н.П. Краткий микологический словарь (для врачей и биологов). Издание второе, исправленное и дополненное. – СПб.: МГК, 2009. – С. 77-79.
15. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика. Под ред. З.д.н. РФ проф. Н.П. Елинова. – СПб.: ГУПТ Наука, 2010. – С. 200-220.
16. *Ozerskaya S.M., Vasilenko A.N, Verslyppe B., Dawyndt P. FungalDC: a database on fungal diversity in culture collections of the world // Inoculum. Supplement to Mycologia (Newsletter of the Mycological Society of America).* – 2010. – Vol.61,№3. – P. 1-5.
17. *European Union*. 2000. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.(seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EC Official Journal of the European Communities L262/21. October 17, 2000.
18. *Approved list of biological agents*. Advisory Committee on Dangerous Pathogens, UK:HSE, 2004. – 21 p. (<http://www.hse.gov.uk/pubns/misc208.pdf>)
19. *Laboratory Biosafety Guidelines*. 2nd Edition. Public Health Agency of Canada, 1996.
20. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. 5th edition. Washington: U.S. Government printing office, 2007. – 422 p. (<http://www.cdc.gov/OD/ohs/biosfty/bmbl5/bmbl5toc.htm>)
21. *Belgian classifications for micro-organisms based on their biological risks*. Belgian Biosafety Server, 2006. (<http://www.biosafety.be/RA/Class/ClassBEL.html>)
22. *Guidelines on the import, transport, transfer, handling and disposal of human pathogens for diagnosis, scientific research and industrial uses in Singapore*. Singapore: Disease Control Branch Current Operations Division Ministry of Health, 2004. – 37 p. (www.wfcc.info/Documents/EBRCN_information_resource_on_transport_080508.pdf)
23. *Guidelines*. Classification of organisms: Fungi. Published by the Swiss Agency for the Environment, Forests and Landscape SAEFL. Berne, 2004. – 115 p.
24. *Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten* Bekanntmachung nach § 5 Absatz 6 Gentechnik-Sicherheitsverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 14.3.1995 (BGBl. I S. 297) // Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz. – 2001. – Vol. 44, №3. – P. 246-304
25. *Laboratory training document and safety manual*. Discipline of biomedical science, University of Sydney laboratory safety manual, revised August 2007. – 26 p. (<http://www.library.usyd.edu.au/databases/dbtitles.html>)
26. *Положение о порядке учета, хранения, обращения, отпуска и пересылки культур бактерий, вирусов, риккетсий, простейших, микоплазм, бактериальных токсинов, ядов биологического происхождения*. – М.: МЗ СССР, 1980. – 37 с.
27. *De Hoog G. S., Guarro, J.Gene and M.J.Figueras*. Atlas of clinical fungi. 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain., – 2000. – 1126 p.
28. *Lee J.-Y., Eun S.-J., Park K-D., et al.* Biosafety of Microbiological Laboratories in Korea // J. Prev. Med. Public Health. – 2005. – Vol. 38, №4. – P.449-456. (<http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/lbg-ldmbl-96/lbg4-eng.php>)
29. *Guidelines for research involving recombinant DNA molecules (NIH Guidelines)*. Department of Health and Human Services. National Institutes of Health. 2002. (http://www4.od.nih.gov/oba/rac/guidelines_02/NIH_Guidelines_Apr_02.htm)
30. *Index Fungorum*: <http://www.speciesfungorum.org/Names/Names.asp>
31. *Письмо Роспотребнадзора от 19.02.2009 N 01/2176-9-32 «О лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний»* (<http://www.consultant.ru/online/base/?req=doc;base=LAW;n=85445;page=esse>)
32. *Уголовный кодекс Российской Федерации*. – М., 1996.
33. *Всемирная почтовая конвенция от 14 сентября 1994 г.* Всемирный почтовый союз. 1994.Севл. (http://www.tamognia.ru/laws/law_111.html)

Поступила в редакцию журнала 19.05.2011

Рецензент: Н.П. Елинов



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, трихотеценовые 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 скормлении 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. Вергинский, 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, контаминированном 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, контаминированных 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 гемолизина, 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, опако(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).

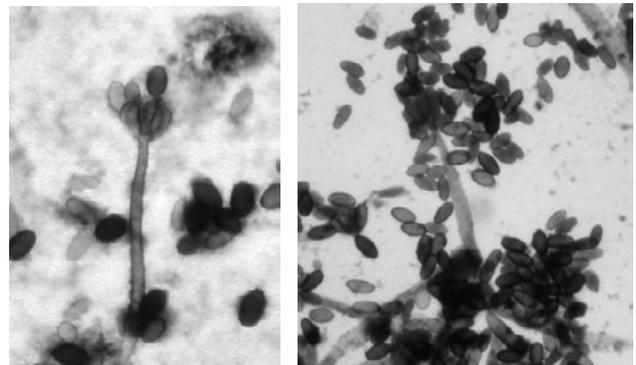


Рис. 2. Конидии с конидиеносцами *S. chartarum* двух разных штаммов, ×100 [8].

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. breviuscula*, *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. sinuatophora*, *S. sphaerospora*, *S. stilboidea*, *S. subsimplex*, *S. suthpensis*, *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 трихотененов) 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.

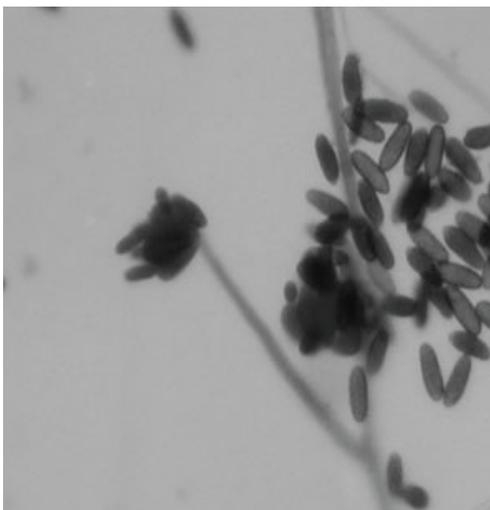
S. microspora Mathur and Sankhla описан в 1976 году. Вид имеет нерегулярное симподиальное ветвление конидиеносцев, округлые конидии с шероховатыми стенками диаметром 5-6 мкм.

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*, $\times 100$ [8].Рис. 4. Конидии с конидиеносцами *S. chlorohalonata*, $\times 100$ [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).

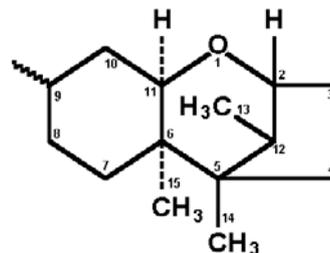


Рис. 5. Структурная формула трихотекана

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).

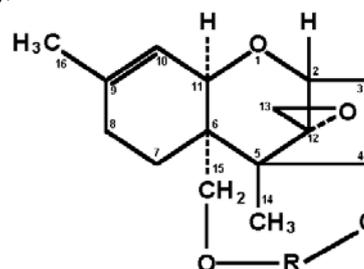
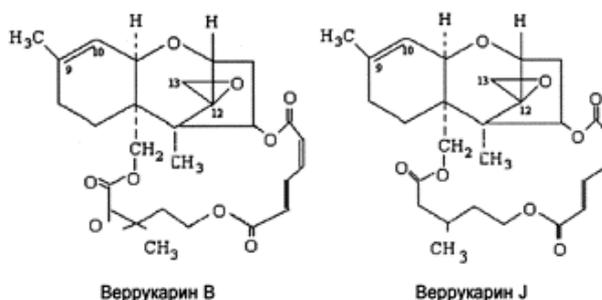
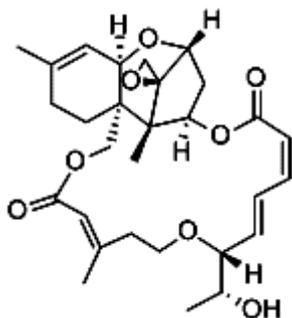


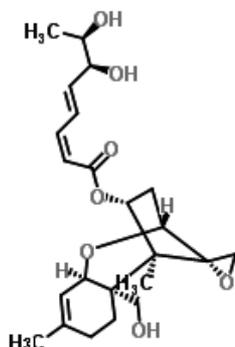
Рис. 6. Общая структурная формула макроциклических трихотеценов

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 E, продуцируемого *Stachybotrys* spp.

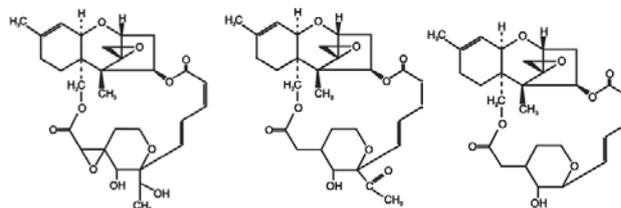
Микотоксины, продуцируемые *Stachybotrys* spp., относящиеся к классу рориридинов, представлены сатратоксинами, имеющими тетрагидропирановое кольцо в макролидной цепи. Триховееррины, триховеерролы (Рис. 9) и триходермадиены имеют разрыв в макролидной цепи, их рассматривают в качестве промежуточных веществ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

Рис. 9. Структурная формула триховееррола B, 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: роридин E, L-2, сатратоксины E, G, H (Рис. 10), веррукураины B, J, а также триховеерролы, триховеерролы A и B, триховееррины A и B.

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 трихотеценов – 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 трихотецедам 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 трихотецены в воздухе пораженных *S. chartarum* помещений на уровне 3 пг/м³ и выше (Brazel 2005). Попытка этого же автора обнаружить трихотецены в крови жителей пораженных помещений окончилась неудачей.

ВЫВОДЫ

1. Некоторые виды грибов рода *Stachybotrys* являются источниками трихотеценовых 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 трихотеценовых 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.

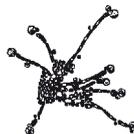
ЛИТЕРАТУРА

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., Рубежнюк И.Г., Кобзистая О.П. Макроциклические трихотеценовые 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. – Л.: 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.* Revisiones 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., Рабинович 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



УДК 616.992

ЗАМЕЧАТЕЛЬНЫЙ ФРАНЦУЗСКИЙ УЧЁНЫЙ – ХИМИК И ВРАЧ ЛУИ КАМИЛЛ МАЙЯР (1878- 1936). К СТОЛЕТИЮ РЕАКЦИИ МАЙЯРА

Елинов Н.П. (зам. директора по научной работе)*

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

© Н.П. Елинов, 2011 г.

В статье представлены основные вехи в жизни Л.К. Майяра, внесшего выдающийся вклад в химию, медицину, пищевую промышленность и, опосредованно, в микробиологию, включая и микологию. Он ушёл из жизни в возрасте 58 лет, но остаётся неясным до сих пор его «самоустранение» от научной деятельности в течение последних 19 лет своей жизни.

Ключевые слова: аминокислоты, индолы, коэффициент Майяра, меланины, меланогенез, метаболизм мочевины, нарушение функции почек, сахара, фенолы, хинон

REMARKABLE FRENCH SCIENTIST – CHEMIST AND PHYSICIAN – LOUIS CAMILLE MAILLARD (1878- 1936). TO CENTURY OF MAILLARD' REACTION

Yelinov N.P. (deputy director for research programs)

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

© Yelinov N.P., 2011 г.

Main landmarks in the life of L.C. Maillard (1878-1936) and his contribution in a number of applied and fundamental branches of science have been considered in this article. He has gone out of a life at age of 58 years, but it is vague so far «self-removal» from research activity for the last 19 years his life.

Key words: aminoacids, chinon, coefficient of Maillard, indolsy, melanines, melanogenesis, metabolism of urea, phenols, sugar, urogenic imperfection.

Луи Камилл Майяр родился в понедельник 04 февраля 1878 г. в Понт-à- Муссон (Франция); город находится на Северо-востоке страны, в Лотарингии, в департаментах Мёрт и Мозель на реке Мозель. Население его через 90 лет (в 1968 г.) достигало 14 тысяч жителей. В нём функционировали речной порт и ТЭС; город являлся также центром чёрной металлургии благодаря действующим чугунолитейному и трубопрокатному заводам.



Фото 1. г. Понт- à-Муссон

Привожу краткие данные из сертификата о рождении Л.С. Майяра: «1878 год, 4 февраля: 10³⁰ часов утра, впереди Martin'a PERREN'a –помощника Мэра города Bridge with Monsoon, делегированного регистратора, будучи в городском зале, появляется 36-летний доктор медицины Leon Charles Arthur, постоянно проживающий в downtown здесь, заявивший, что сегодня в 4 часа утра Marie Mathilde Baudot, 30 лет, без профессии (его жена была ограничена по месту жительства в Pont with Mansoon), вместе с дитя мужского пола, которого он представил нам, сказав, что хочет поместить его на вилле, от которой до Pont-à-Mousson четыре часа езды, и что этот ребёнок – его сын с именем Louis Camille»[1]. В брачном свидетельстве родителей Л.К. Майяра [2] имеются неточности в указании их возраста – 31 год и 1 месяц (отцу) и 24 года и 10 месяцев (матери), хотя бракосочетание их состоялось почти за 7 лет до рождения сына.

Краткая генеалогия Луи Камилла Майяра следующая:

1. Mr. Baudot (из Neuse) – предок Л.К. Майяра (с 1740 г. главный клерк Marquisete of Heudicourt)

2. Mr. Baudot – прапрадед Л.К. Майяра – главный мастер Saint Mihiel's колледжа (его жена – дочь Alderman'a)

3. Mr. Charles Francois Baudot – дед Л.К. Майяра – торговец (его жена – **Catherina Feyen, Baudot** – дочь сборщика налогов в Atton'e). У них было 4 детей:
3.1. Charles Emile (умер в раннем возрасте у деда).
3.2. Marie Justine Pauline.
3.3. Marie Camille Baudot.
3.4. Marie Mathilde Baudot.

Marie Justine Pauline выходит замуж за инспектора фирмы «Eaux & Forats» Mr. Adrian'a. Их дочь Marie

* Контактное лицо: Елинов Николай Петрович
Тел.: (812) 303-51-40

Camille Henriette Adrian выйдет замуж за Dr. Rohmer'a – старшего регистратора, офтальмолога и профессора де Луи Камилла на факультете. Marie Camille Baudot выйдет замуж за Mr. Lambie.

25 июня 1872 года Marie Mathilde Baudot вышла замуж за младшего Dr. Leon Charles Arthur Maillard, который и будет отцом Л.К. Майяра.

Из приведенных данных следует, что Л.К. Майяр имел близкие или дальние родственные связи с представителями ветви **Feuен**, например, семейств Blondin, Haushalter, Senn, Rohmer, Lienhardt и Varin. Эти семейства имели превосходную известность и относились к высокому обществу города. Семья «вселила» в него основы образования и школьные познания, Lorraine «сделал его человеком с настойчивым и упорным характером подобно другим жителям, чьи сердца выбрали Францию 300 лет тому назад», университет привил ему превосходную эрудицию (университет в Нанси он называл своей Alma mater).

Л.К. Майяр окончил лицей Пуанкаре (Нанси) в 1894 г. бакалавром по литературе и философии, когда ему было 16 лет.



Фото 2. Майяру 16 лет (1894 г.)

С учётом выраженных способностей он был зачислен на факультет науки Университета Нанси, где проявил себя и достиг заметных успехов в области естественных наук и, особенно, в химии. Первую научную работу Л. К. Майяр посвятил изучению влияния известняка на растения. Он закончил факультет с серебряной медалью в 1897 году и в том же году начал работать на медицинском факультете того же университета. В 1899 г. он получил диплом по специальности «зоология» и в свои 20 лет выступил с научным докладом на Международном Конгрессе в Англии (Кембридж).



Фото 2. Майяру 25 лет (1903 г.)

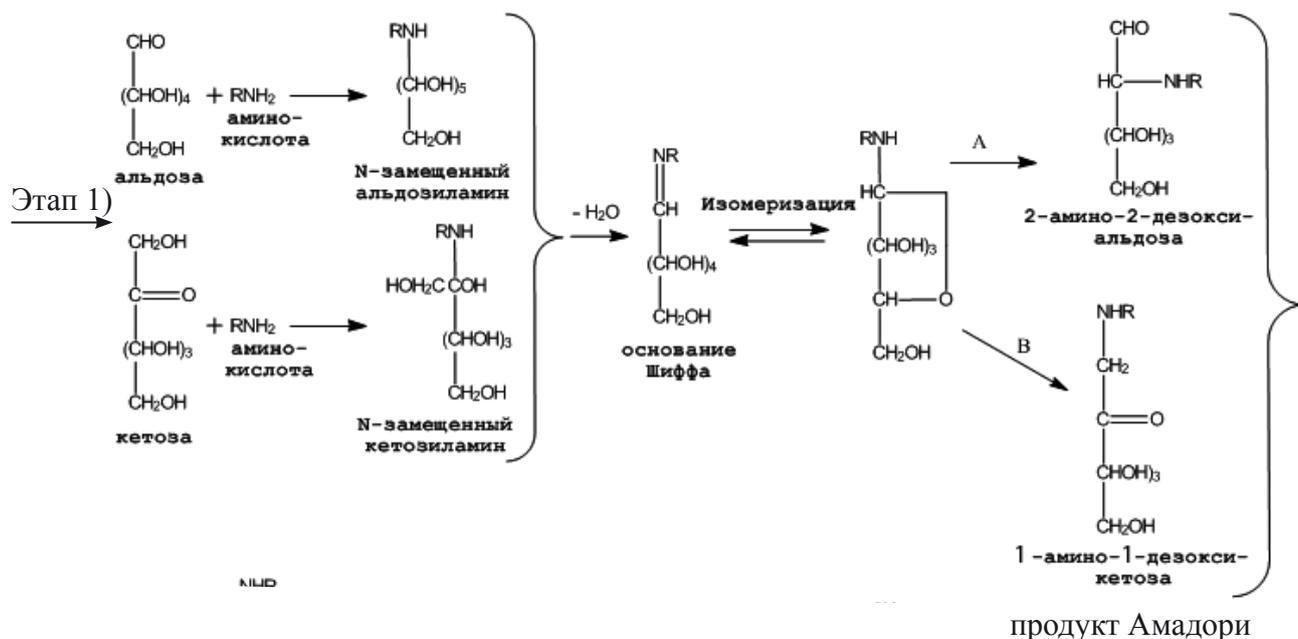
Можно предположить, что его любовь к химии (среди прочих естественных наук) побудили Л.К. Майяра поступить на факультет медицины Университета в Париже при протекже профессора Армана Готье.

В Париже его работа по физиологии, в особенности – метаболизму мочевины и болезни почек, привело автора к введению новых концепций об «Урогенном несовершенстве» и «Коэффициент Майяра» или «Индекс урогенного несовершенства». Его идеи оказались весьма полезными в диагнозе почечных нарушений.

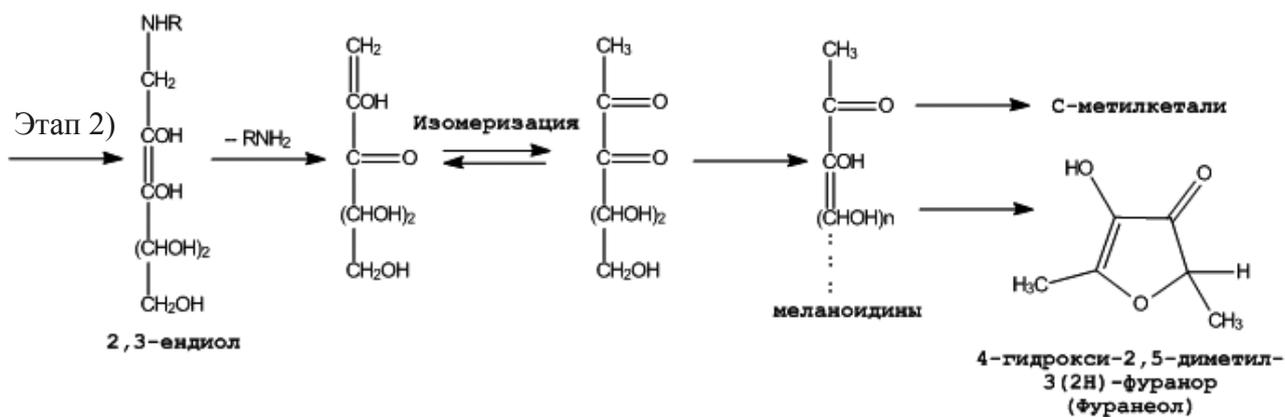
В 1912 г. он предпринял исследование реакции между аминокислотами и сахарами. Эту работу расценили одним из более важных вкладов, и по сему она была названа его именем – **реакция Майяра**. За ряд работ его награждали разными премиями, включая премию Французской Академии наук в 1914 г.

Реакция Майяра – это неферментативное почернение конечного продукта после взаимодействия аминокислоты с сахаром, обычно после нагрева их смеси. Жизненно важную в приготовлении или презентации многих видов пищи реакцию и стали называть по имени химика Л.К. Майяра, который первым описал её в десятых годах XX века во время попытки воспроизведения синтеза биопротеина.

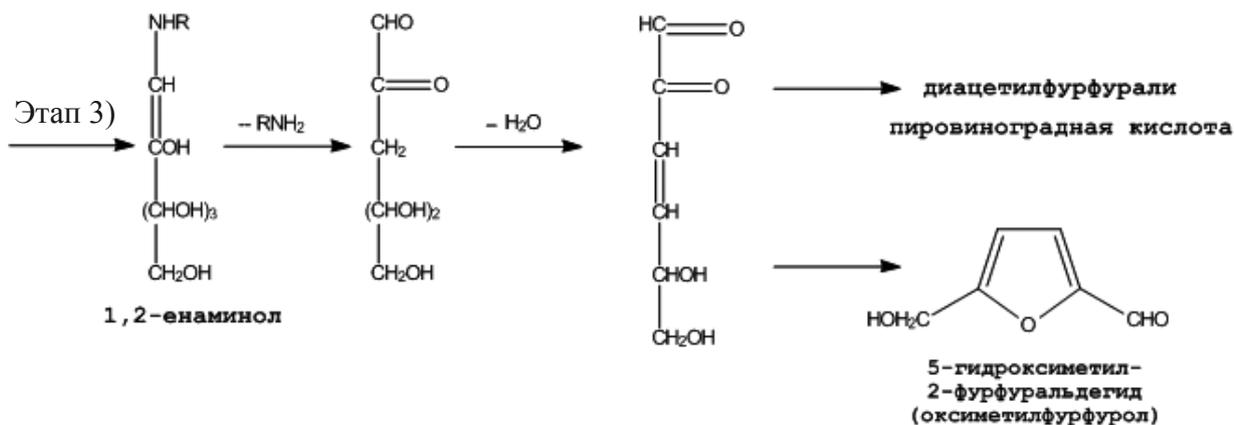
Фактически реакцию Майяра подразделяют на 3 этапа. Первый из них включает взаимодействие аминокислот(ы) с альдозами/кетозами по следующей схеме:



Второй этап реакции Майяра заключается в умеренной дегидратации:



Третий этап реакции (выраженная дегидратация) необходимо проводить при кислых значениях рН. Принципиальный путь дегградации кетозаминов приведен ниже:



бисквиты, мясо животных и мясные изделия, различные сорта пива и некоторые, более крепкие по содержанию алкоголя, напитки (например, виски); много веков популярен у разных народов кофе и т.д.

Таким образом, ещё раз подчеркнём тот важный факт, что сущность реакции Майяра заключается в неферментативном покоричневении субстрата (сходном с карамелизацией) в результате взаимодействия аминокислот с редуцирующими сахарами при нагревании. Реактивная карбонильная группа углевода взаимодействует с нуклеофильной аминогруппой аминокислоты и образует сложную смесь недостаточно охарактеризованных молекул, ответственных за набор запаха и приятного вкуса. Данный процесс ускоряется в щелочном окружении, поскольку аминогруппы депротонируются и поэтому приобретают повышенную нуклеофильность. Тип аминокислоты определяет результирующий аромат. Эта реакция служит основой для производства ароматизирующих веществ в промышленном производстве. В результате изобретают сотни различных душистых компонентов, которые, напротив, разрушаются во имя образования ещё более новых ароматических компонентов, и т.д.

Однако впервые описанные Л.К. Майяром азотсодержащие поликонденсаты – меланины, могут иметь прямое или опосредованное отношение к грибам-патогенам и условным патогенам, поскольку в мире живых существ на планете Земля обитает много видов, имеющих тёмную пигментацию – коричневого или чёрного цвета. Сравнительно большое число видов грибов синтезируют подобной окраски пигменты. Грибные меланины (от греч. melas, в родительном падеже – melanos – тёмный, чёрный) выполняют роль факторов агрессии /вирулентности.

Меланины имеют большую молекулярную массу (1777 Да) и фактически представляют собой азотсодержащие полиоксиданты, впервые описанные Л.К. Майяром. В данной статье представлены микромицеты – патогены человека и некоторых животных, образующие поликетидные предшественники меланина: *Aspergillus nidulans*, *A. niger*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium carrionii*, *Exophiala jeanselmei*, *Fonsecaea compacta*, *F. pedrosoi*, *Hendersonula toruloidii*, *Phaeoannellomyces wernickii*, *Phialophora richardsiae*, *P. verrucosa*, *Wangiella dermatitidis*, *Xylohypha bantiana*.

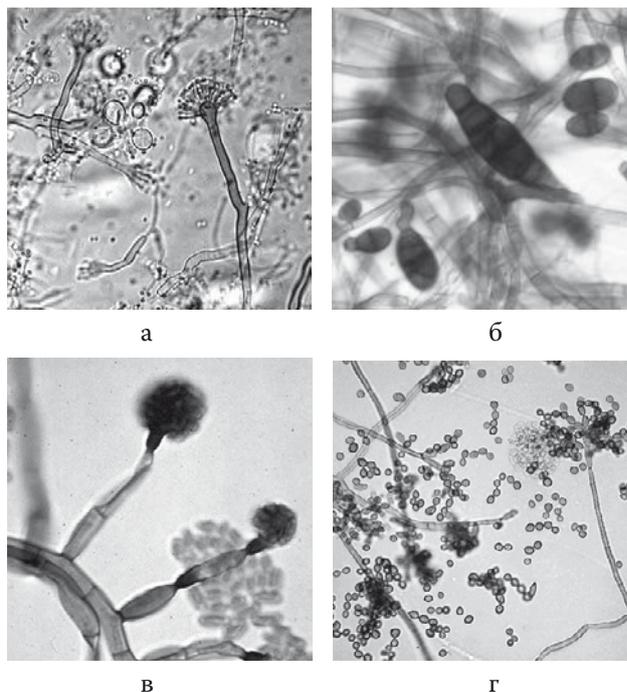


Рис. 1. а – *A. nidulans*, б – *A. alternata*, в - *P. verrucosa*, г - *Fonsecaea compacta*

Природные меланины преимущественно состоят из полимерных конъюгированных орто-дигидро-оксифенолов. Остатки полимерного меланина также содержат два ортокислорода.

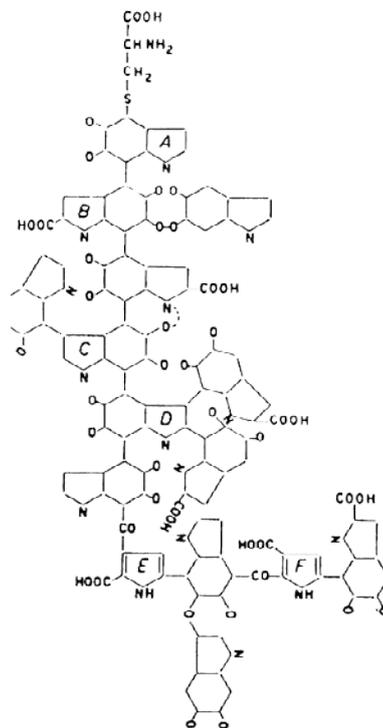


Рис. 2. Структура меланина - «кальмара», предложенная Nicolaus R.A., Piatelli M., Fattoruuso E. [3]. Представлены ароматические кольца. Каждая пара кислородных заместителей может существовать как эфиры хиноновые, гидрохиноновые или семихиноновые (полухиноновые) группы

Структурная (-ые) формула(-ы) меланина (-ов) окончательно не установлена(-ы), но предложена ус-

реднённая брутто-формула: $C_{77}H_{98}O_{33}N_{14}S$, $MM=1777$.

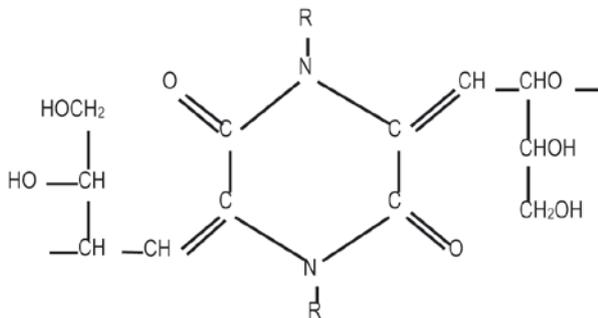
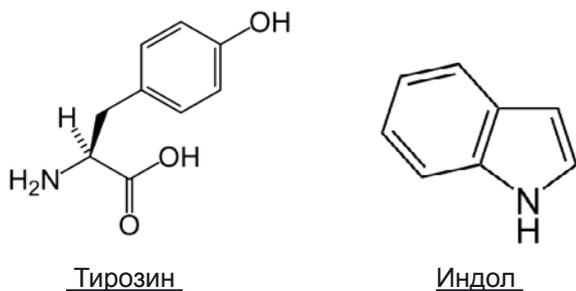


Рис. 3. Структурное звено меланоидина (R-радикалы). Дикетопиразинохиноидная структура [4]

Кольцо тирозина представляет второй источник молекул – предшественников либо как таковых, либо как дигидроксифенилаланина (ДОФА), а так как окисленный продукт ДОФА – дофахинон способен замыкаться в цикл с образованием кольца 5,6-дигидроксииндола, тирозина или ДОФА, то меланин типично содержит индольные кольца.



Тирозин

Индол

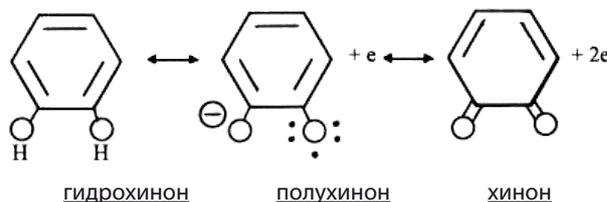
Дополнительными мономерными предшественниками меланина являются γ -глутаминил-4-гидроксибензол или катехол, характерные для базидиомицетовых грибов. В действительном синтезе меланина предшественники дифенолы дестабилизируются ферментативным окислением до хинонов, после чего продукты окисления спонтанно полимеризуются в меланин; ферменты, участвующие в этом процессе, называют *полифенолоксидазами*, или *лакказами*. Тирозиназы катализируют реакции двухступенчатого окисления тирозина в процессе биосинтеза меланина.

Меланин локализуется у грибов в клеточной стенке, что подтверждается заметным уменьшением темной окраски клеток после удаления клеточной стенки. Во-вторых, неокрашенные (альбино-)мутанты *Wangiella dermatitidis* и *Cryptococcus neoformans* выявляются в электронном микроскопе гиалиновыми (стекловидными), тогда как родительские дикие типы имеют электронно-плотный внешний слой клеточной стенки.

В-третьих, при выращивании альбино-культуры *W. dermatitidis* на среде с добавлением сциталона (3,6,8-тригидрокси-3,4-дигидронафталин-1(2H)-он) мутант становился меланизированным и восстанавливал электронно-плотный слой клеточной стенки. Наконец, меланизированные клетки *W. dermatitidis* были более устойчивыми к ферментному гидролизу,

чем те же штаммы, ставшие альбино-вариантами под действием трициклазола (мутagen – ингибитор пути биосинтеза поликетид-меланина), или Mel- штаммы, имеющие метаболические блоки в синтезе меланина, доказывая тем самым участие меланина в структуре клеточной стенки.

Танины и хиноны важны для растений; первые из них имеют структуры мономерных полигидроксифенолов; они (танины) хорошие восстанавливающие агенты и мусорщики окси-радикалов, при этом защищающие растительный «эпителий» от УФЛ. В реакциях склеротизации растений освобождаются из везикул полифенолоксидазы в ответ на повреждение, а в присутствии кислорода катализируют двухэлектронное окисление танина с образованием реактивных хинонов.



гидрохинон

полухинон

хинон

При реактивности и потенциальной токсичности хиноновых окисленных продуктов – предшественников меланина можно было ожидать, что определенные грибы – меланогены могут секретировать такие продукты, которые способны повреждать организмы – хозяева. Действительно, многочисленные токсины – производные дигидроксиафталина (DHN) были описаны в последние годы. Один из них – алтеихин является токсическим хиноном, секретирующимся микромицетом *Alternaria eichhorniae*.

Имеется удивительное подтверждение того факта, что можно наблюдать феномен «меланиновой тени», в которой меланизированные клетки содержат видимый, устойчивый к деградации, «скелет» клеточной стенки, который остается после жесткого гидролиза.

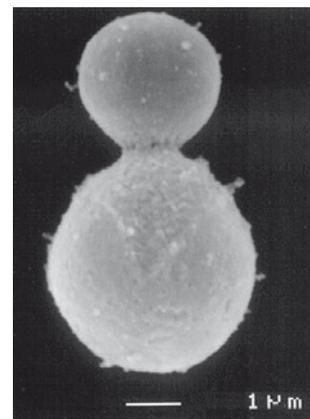


Рис. 4. Электронная микрофотография «меланиновой тени» *Cryptococcus neoformans* из органов мышей, зараженных Mel+ *C. neoformans* и экстрагированных растворителями, затем гидролизованных горячей HCl и отцентрифугированных. Эти структуры не видели, когда применяли для заражения мышей Mel- *C. neoformans* [5]

Многочисленное окисленное состояние, пред-

сказанное для меланина, было подтверждено его электрохимическим восстановлением Ti (III) и окислением Fe(III) или кислородом. Было показано, что меланин катализирует восстановление Fe(III) NAD.H – дегидрогеназой. Меланин выступает здесь медиатором обмена электронов.

Участие радикалов семихинона (промежуточная стадия в реакциях окисления – восстановления) было показано мониторингом электрохимических реакций меланина *Aspergillus niger* электронным спин-резонансом. Контролируемым вольтметрированием доказан прирост Redox-забуферивающей ёмкости, и ответом на это было заметное возрастание толщины меланиновой плёнки.

Ныне заметно возросло число грибов – меланогенов, способных поражать человека и отдельных представителей теплокровных животных, и с этим приходится считаться и разрабатывать меры профилактики и лечения соответствующих заболеваний. К тому же, отдельные из таких патогенов являются космополитами. Мы приводим порядка 60 видов меланин-содержащих грибов, которыми не исчерпывается общее число их.

Заболевание	Возбудитель (-и)
Апофизомикоз (Мукороз)	<i>Aporhysomyces elegans</i>
Альтернариоз	<i>Alternaria alternata</i>
Аспергиллёз	<i>Aspergillus</i> spp.
Ауреобазидиоз	<i>Aureobasidium pullulans</i>
Базидиоболоз (Энтомофтороз)	<i>Basidiobolus ranarum</i>
Биполярроз	<i>Bipolaris spicifera</i> , <i>B. havaiensis</i> , <i>B. australiensis</i>
Ботритиоз, или ботриомикоз	<i>Botrytis cinerea</i>
Вангиеллёз	<i>Wangiella dermatitidis</i>
Дрехслероз	<i>Drechslera bisepitata</i>
Кладофалофороз	<i>Cladophialophora bantiana</i> , <i>C. carrioinii</i>
Кокцеромикоз	<i>Cocceromyces recurvatus</i>
Конидиоболоз (Энтомофтороз)	<i>Conidiobolus coronatus</i> , <i>C. incongruus</i>
Криптококкоз	<i>Cryptococcus neoformans</i> v. <i>neoformans</i> , v. <i>grubii</i> , v. <i>gattii</i>
Ксилогифоз	<i>Xylohypha bantiana</i> (syn. <i>Cladosporium trichoides</i>)
Куннингамеллёз	<i>Cunninghamella elegans</i> (syn. <i>C. bertholletiae</i>)
Курвулариоз	<i>Curvularia lunata</i> , <i>C. pallens</i>
Малассезиоз	<i>Malassezia furfur</i>
Микокладоз (Син. Абсидиоз)	<i>Mycocladius corymbifer</i> (syn. <i>Absidia corymbifera</i>)
Мукороз	<i>Mucor indicus</i> , <i>M.ucedo</i>
Опако(фео)акремониоз	<i>Opaco(phaeo)acremonium parasiticum</i> , <i>O. Inflatipes</i> , <i>O. rubrugenum</i>
Псевдоаллешериоз	<i>Pseudoallescheria boydii</i>
Пьедраиоз (Чёрная пьедра)	<i>Piedraia hortae</i>
Ризомукороз	<i>Rhizomucor pusillus</i>
Ризопоп (Мукороз)	<i>Rhizopus oryzae</i> , <i>R. stolonifer</i> v. <i>stolonifer</i>
Ринокладиеллёз	<i>Rhinocladia aquaspersa</i>
Саксенез	<i>Saksenaea vasiformis</i>
Синцефаластроз	<i>Syncefalastrum racemosum</i>
Споротрикоз	<i>Sporothrix schenckii</i>
Стахиоботриоз	<i>Stachybotrys chartarum</i>
Сцедоспориоз	<i>Scedosporium apiospermum</i>

Улокладидоз	<i>Ulocladium botrytis</i> , <i>U. chartarum</i>
Феоаннеломикоз	<i>Pheoannelomyces wernickii</i>
Филофороз	<i>Phialophora richardsiae</i> , <i>P. verrucosa</i>
Фомоз	<i>Phoma macrostomata</i>
Фонсецеоз	<i>Fonsecaea compacta</i> u <i>F. pedrosoi</i>
Хендерсонулёз	<i>Hendersonula toruloidii</i>
Хормонемоз	<i>Hormonema dematioides</i>
Хортеоз (Tinea nigra)	<i>Hortaea wernickii</i>
Хромомикоз	<i>Cladosporium carrionii</i>
Экзофиалёз	<i>Exophiala jeanselmii</i> , <i>E. dermatitidis</i> , <i>E. werneckii</i>
Эксерохилёз	<i>Exserohilum rostratum</i>

Примечание:

1) чёрный березовый гриб (Чага) = *Inonotus obliquus*; бесплодная (стерильная) форма базидиального гриба, широко применяемого в народной лечебной практике, в том числе – при меланоме;

2) названия микозов и патогенов приведены в уточнённом виде и утверждены на заседании РКПУПГ 23 июня 2011 г.

Кроме того, что меланины нередко предохраняют или упрочивают патогенные свойства соответствующих видов грибов, они обеспечивают многие позитивные свойства организмов, их содержащих:

1. Так, меланин является протектором против действия свободных радикалов.

2. Меланизированные клетки выживают приблизительно в 10 раз лучше, чем немеланизированные.

3. Меланин в клетках умеренно повышает их резистентность к температуре, то есть способствует выживаемости.

4. Потеря меланина клетками сопровождается проявлением их чувствительности к повреждающему действию окислителей. Меланизированные клетки, например *Wangiella dermatitidis*, более устойчивы к окислительному киллингу человеческими нейтрофилами, чем немеланизированные клетки. Следовательно, ДНН-меланин у тёмноокрашенных грибов выполняет роль антиоксиданта.

5. У *Cryptococcus neoformans* повышенное содержание меланина может защищать и компенсировать снижение в клетках СОД (супероксиддисмутазы), хотя этот физиологический процесс ещё до конца не расшифрован. У тех же криптококков меланин связывается с разными клеточными белками и, как правило, защищает клетки от неблагоприятных внешних воздействий.

6. Меланин защищает клетки от УФЛ, хотя из этого следует, что когда формируется аэрозоль при солнечном освещении, меланизированные споры любого вида гриба могут быть более инфекционными (возрастает роль факторов агрессии вида). Меланины поглощают УФЛ и защищают более глубокие ткани от повреждения; они усваивают УФ-излучения для обеспечения жизнедеятельности организма, например, *Cladosporium sphaeospermum*, который в Чернобыльском саркофаге (26 апреля 1986 г.) вырабатывал меланин при наличии радиации, даже в 500 раз превышающей уровень естественного фона.

7. Меланин снижает накопление радионуклидов; он омолаживающее действует на организм. Возможно применение меланина для профилактики и лечения **онкозаболеваний**, но **меланома** – злокачественная опухоль, развивающаяся из меланоцитов, самая опасная из разновидностей рака кожи.

8. Меланины у позвоночных образуются в специализированных клетках – меланоцитах и откладываются в виде гранул в связанном виде с белками (меланопротеины). Различают меланины по цвету: **чёрный** – *эумеланин*, **коричневый** – *факомеланин* и **жёлтый** – *феомеланин*. Выделяют ещё *нейромеланин* – мозговой аналог меланина (содержит капли жира в отличие от других меланинов).

Можно считать, что меланин у грибов оказался материализованным штрихом природной селекции. О нём уже много написано и будет написано, но позволяю себе сказать, что проходит 100-летний период со времени открытия меланинов, однако точная структура их остаётся до конца не выясненной и, очевидно, потому, что полимеризация меланинов не протекает по точному шаблону как, например, она происходит применительно к другим биополимерам; конкретный образец меланина содержит молекулы с различными структурами. Поэтому любая изображаемая схема строения данного пигмента будет свёрхупрощённой, и с этим, очевидно, следует смириться ныне и смиряться впредь!

Луи Камилл Майяр в период и после первой мировой войны.

С первых дней первой мировой войны Л.К. Майяр записался солдатом во французскую армию в августе 1914 г., где его вскоре перевели на службу в госпиталь в отделение, специально предназначенное для противотифозной защиты и вакцинации. Там, к своему несчастью, он заразился и переболел тифом. В 1916 г. его наградили орденом Почётного Легиона за службу в армии.

После войны Л.К. Майяр оставил Париж в 1919 г. и уехал в Алжир, где в Алжирском университете занял пост в отделе фармации на факультете медицинских наук, кафедре биологической химии и токсикологии, и проработал там 19 последующих лет и, как

ни удивительно, не возвращался к научным исследованиям все эти годы. Какой побудительный мотив подтолкнул его к такому самоустранению? – остаётся до сих пор тайной, унесенной им навечно в иной мир в 1936 г. 12 мая во время божественной службы в Париже. Л.К. Майяр похоронен в городе своего рождения [6].



Фото 3. Л.К. Майяр в возрасте 58 лет

Литература о Майяре Л.К и его научно-практической деятельности исключительно богата и разнообразна. Ныне существует Международное общество The International Maillard Reaction Society [7], которое отражает интересы различных специалистов «разгадывающих загадки Майяра Л.К., заданные им в начале XX века в виде двух слов **РЕАКЦИЯ МАЙЯРА**».

Микробиологи и, в том числе медицинские микологи, все чаще сталкиваются с необходимостью глубокого изучения продуцентов меланинов, задействованных во многих процессах биоповреждений и патологических процессах у людей, животных и растений [8-10]; меланины могут быть вредными и полезными в зависимости от конкретной среды, в которой находятся их продуценты. Возникающие при этом проблемы и задачи должны разрешать и решать в комплексном труде высококлассные специалисты различного профиля.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Birth certificate # 24: Louis Camille Maillard*. February 4, 1878 (<http://lc-maillard.org/english/biogoss.htm...06/htm>)
2. *L'UNION MAILLARD ET BAUDOT, LA DOT*. Marriage certificate of the parents of Louis Camille Maillard, June 25, 1872. Publication of the marriage in the Mussipontacit Patriot of June 15, 1872.
3. *Nicolaus R.A., Piatelli M., Fattoruuso E.* On some natural melanins// Tetrahedron. – 1964. – Vol.20. – P. 1163-1172 [Pub. Med.].
4. *Давидьянц С.Б.* Дикетопиразинхиноидная структура //Химия и жизнь. – 1980. –№ 3.– С. 44-48.
5. *Roses A.L., Nosanchuk J.D., Feldmesser M., et al.* Synthesis of polymerized melanin by *Cryptococcus neoformans* in infected rodents // Infect. Immunol. – 2000. – Vol. 68. – P. 2845-2853.
6. *Louis Camill Reaction Society Maillard* (<http://wikipedia.org/wiki>)
7. *Official Website of the International Maillard Reaction Society* (<http://www.imars.org/>)
8. *Елинов Н.П.* Меланины у опико(фео)гифомицетов – патогенов и сапробов// Проблемы мед. микологии. – 2009. – Т.11, №2. – С. 71-72.
9. *Елинов Н.П.* Структурированные и неструктурированные формы существования микромицетов в искусственных и естественных условиях // Проблемы мед. микологии. – 2009. – Т.11, №3. – С. 3-9.
10. *Бабицкая В.Г., Щерба В.В.* Природа меланиновых пигментов некоторых микро- и макромицетов //Прикладная биохимия и микробиология. – 2002. – Т.38, №3. – С. 286-291.

Поступила в редакцию журнала 02.08.2011

ХРОНИЧЕСКИЙ ИНВАЗИВНЫЙ АСПЕРГИЛЛЕЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОЙ ПАЗУХИ (МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

¹Байдик О.Д. (докторант)*, ²Сысолятин П.Г. (профессор кафедры)

¹Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России; ²Кафедра госпитальной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России

© Байдик О.Д., Сысолятин П.Г., 2011

При хроническом инвазивном аспергиллезе слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи (СО ВЧП) отмечали выраженную клеточную инфильтрацию собственной пластинки, обширные геморрагии, зоны фокального некроза. При этом обнаружили преобладание воспалительных изменений над некротическими. Эпителиоциты характеризовались интенсивными белок-синтетической и пластической функциями, что может указывать на высокие репаративные возможности эпителия.

Ключевые слова: инвазивный аспергиллез, морфология, синусит, ультраструктура

CHRONIC INVASIVE ASPERGILLOSIS OF MUCOUS MEMBRANE MAXILLARY SINUS (MORPHOLOGICAL STUDY)

Baydik O. D. (doctoral students), Sysolyatin P.G. (professor of chair)

¹Chair of histology, cytology and embryology of GOU VPO Siberian State Medical University of Health Ministry of Russia; ²Chair of hospital oral surgery and maxillofacial surgery of GOU VPO Novosibirsk State Medical University of Public Health Ministry of Russia

© Baydik O.D., Sysolyatin P.G., 2011

At chronic invasive aspergillosis of mucous membrane maxillary sinus (MM of MS) expressed cellular infiltration own plate, extensive hemorrhagia and zones focal necrose have been marked. Thus prevalence of inflammatory changes over necrotic was revealed. Epithelial cells were characterised fiber-synthetic and plastic functions that can specify on high intensive reparative possibilities of epithelium.

Key words: invasive aspergillosis, morphology, sinusitis, ultrastructure

* Контактное лицо: Байдик Ольга Дмитриевна
Тел.: 8-(382-2)-52-74-04

Хронический инвазивный аспергиллез придаточных пазух носа – наименее изученная форма грибковых риносинуситов [1]. Заболевание характеризуется внедрением грибов в слизистую оболочку с последующим разрушением стенок пазухи, а затем – и окружающих структур. Выделяют две формы хронического инвазивного грибкового синусита – хронический некротизирующий синусит и хронический гранулематозный (аспергиллезная гранулема) [1-3]. Хронический гранулематозный синусит встречается в тропическом климате – в Индии, Пакистане, Судане и нескольких штатах США [1, 4]. Заболевание вызывается исключительно *Aspergillus flavus* [3, 5]. Хронический инвазивный некротизирующий аспергиллез околоносовых пазух чаще всего развивается из неинвазивной формы. Как правило, поражаются верхнечелюстные пазухи и передние клетки решетчатого лабиринта [5]. Основную категорию больных составляют люди зрелого и пожилого возраста с наличием предрасполагающих факторов, таких как сахарный диабет, длительный прием антибиотиков, кортикостероидов, иммунодефициты [5-7]. На ранних стадиях развития заболевания клиническая картина сходна с таковой при хроническом синусите. Проводимое консервативное лечение не эффективно. Спустя несколько лет, происходит разрушение костной стенки, сопровождающееся отеком, асимметрией лица, болями на пораженной стороне, экзофтальмом [1, 5]. При компьютерной и магниторезонансной томографии наблюдают воспалительные изменения слизистой оболочки с рентгенологическими симптомами грибкового синусита. Однако единственно надежным методом верификации диагноза является гистологическое исследование с обнаружением мицелия грибов в слизистой оболочке пазухи, кровеносных сосудах или кости [5]. В научной литературе имеются отрывочные сведения, касающиеся патогистологической картины хронического инвазивного некротизирующего аспергиллеза верхнечелюстных пазух.

Цель исследования – изучить морфологические изменения слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи (СО ВЧП) при хроническом инвазивном аспергиллезе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В период с 2005 по 2010 гг. обследовано 23 больных с диагнозом «хронический инвазивный аспергиллез верхнечелюстной пазухи» в возрасте от 43 до 55 лет (средний – $48,3 \pm 3,42$ год). Диагноз ставили на основе клинических, лучевых, эндоскопических, микологических и гистологических методов исследования. Из 23 больных у 11 в анамнезе имел место длительный прием антибиотиков (в течение 7-9 лет), 12 пациентов страдали сопутствующими заболеваниями: 6 – сахарным диабетом I типа, 6 – бронхиальной астмой среднетяжелой степени. При культуральном исследовании во всех случаях выделяли грибок рода *Aspergillus*. IgE-антитела к *A. fumigatus* в сыворотке

крови определяли у всех больных (они находились в диапазоне от 1,3 до 14,6 ЕД RAST), наличие галактоманна в сыворотке крови (оптическая плотность более 1,0) выявили у 21 пациента (91,3%). При анализе компьютерных томограмм ни в одном случае деструкции костных стенок пазух не наблюдали. У 8 пациентов с хроническим инвазивным аспергиллезом верхнечелюстных пазух проводили комплексное морфологическое исследование СО ВЧП. Контрольную группу составили биоптаты визуально неизменной СО ВЧП, полученные в ходе оперативных вмешательств по поводу ретенционных кист у 6 пациентов. Возраст больных от 17 до 26 лет (средний – $23,83 \pm 2,51$ год). Биопсийный материал был взят в соответствии с требованиями этического комитета и письменного согласия пациентов.

Для световой микроскопии фрагменты СО фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 1 суток и заливали в парафин. Срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, ставили PAS-реакцию. В полученных препаратах изучали состояние эпителия, с помощью окуляр-микрометра измеряли толщину базальной мембраны. В 1 мм² собственной пластинки СО ВЧП определяли численную плотность клеточных элементов (лимфоцитов, макрофагов, плазмочитов).

Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной методике. Использовали антитела фирмы «Дако» (Дания) – CD3, CD8, CD20, muramidase (Mur), фирмы «Novocastra» (Великобритания) – CD4. Применяли высокочувствительную полимерную систему визуализации фирмы «BioGenex». В качестве хромогена использовали диаминобензидин. Срезы докрашивали гематоксилином. Вычисляли относительное содержание клеток (%) CD3, CD4, CD8, CD20 по отношению к окрашенным клеткам в собственной пластинке СО ВЧП в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$. Экспрессию рецепторов к Mur оценивали по трехбалльной шкале (слабая, средняя, выраженная степень). Для оценки выраженности экспрессии рецепторов к Mur определяли процент клеток, имеющих рецепторы, показатель экспрессии [8].

Изучение ультраструктуры слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии [9]. Материал фиксировали в 4% растворе параформальдегида, дофиксировали в 1% растворе OsO₄, дегидратировали в этиловых спиртах восходящей концентрации и заключали в смесь эпона и аралдита. Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме «Ultratome III» (LKB, Швеция). Полутонкие срезы толщиной 1 мкм окрашивали 1% раствором азура II и исследовали под световым микроскопом. Ультратонкие срезы толщиной 60-100 нм наносили на сетки-подложки с формваровой пленкой-подложкой и контрастировали 2% раствором уранилацетата и цитратом свинца. Препараты просматривали в электронном микроскопе «JEM-100 CXII» («JEOL»,

Япония) с апертурной диафрагмой 25-30 мкм при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ Statistica 6.0 for Windows. Данные анализировали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – ошибка среднего значения. Для оценки взаимосвязи между параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной группе СО ВЧП была выстлана многорядным реснитчатым эпителием [10]. Слизистая оболочка выстлана однослойным кубическим или призматическим эпителием (Рис. 1).

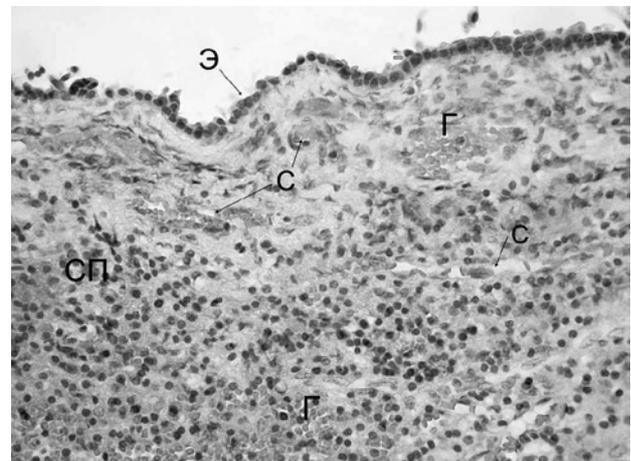


Рис. 1. Слизистая оболочка верхнечелюстной пазухи пациентки с хроническим инвазивным аспергиллезом СО ВЧП. (Э – эпителий, СП – собственная пластинка, Г – геморрагии, С – сосуды). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400

Цитоплазма эпителиоцитов отличалась резкой базофилией. Ядра клеток зачастую выглядели как неправильные многоугольники. На некоторых участках слизистой оболочки эпителий имел типичное строение. При этом наблюдали увеличение высоты эпителия до 5-7 рядов за счет расширения средней его трети. На таких участках выявили значительное увеличение ШИК-позитивных бокаловидных клеток. Зачастую секрет заполнял всю цитоплазму клеток, оттесняя ядро в базальную часть. Соотношение реснитчатых и бокаловидных клеток составило 3,3:1 (в контроле – 5:1).

Собственная пластинка богато диффузно инфильтрирована лимфоцитами, плазматическими клетками, макрофагами и тучными клетками (таб.).

Таблица

Содержание клеточных элементов, CD 3, CD 4, CD 8, CD 20 и экспрессия Mlg в собственной пластинке СО ВЧП при грибковых синуситах (M ± m)

Показатель	Инвазивный аспергиллез (n=8)	Контрольная группа (n=6)
Макрофаги, ·10 ³	11,7 ± 0,4*	0,22 ± 0,04*
Лимфоциты, ·10 ³	12,4 ± 0,8	0,69 ± 0,07*
Плазмоциты, ·10 ³	12,8 ± 0,6*	0,57 ± 0,08*
Тучные клетки, 10 ³	13,3 ± 1,2*	0,12 ± 0,01*
CD 3, %	48,29 ± 5,16	21,90 ± 6,71*
CD 4, %	27,67 ± 4,2	17,20 ± 4,50*
CD 8, %	23,20 ± 3,1	6,38 ± 2,21*
CD 20, %	39,39 ± 4,14	7,39 ± 3,71*
Mlg, ед.	110,13 ± 12,10	57,31 ± 17,10*

Примечание: * — различие статистически значимо (p < 0,05).

Среди клеточных элементов преобладали лимфоциты и плазмоциты. Тучные клетки локализовались подэпителиально и периваскулярно, некоторые из них содержали ШИК-позитивные гранулы. В глубоких отделах собственной пластинки обнаруживали множественные крупные и мелкие очаги фокального некроза ткани и грибковый мицелий (Рис. 2).

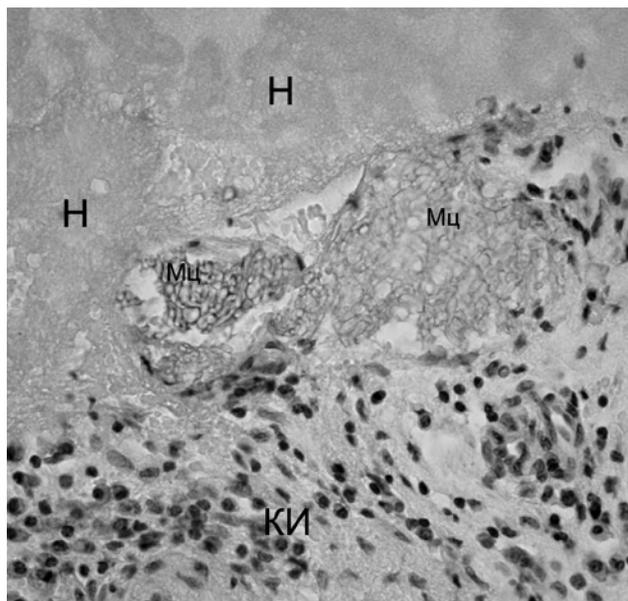


Рис. 2. Мицелий *Aspergillus* sp. (Мц), окруженный лимфо-плазмочитарным валом (КИ) и зоной фокального некроза (Н) в собственной пластинке СО ВЧП. ШИК-реакция с докраской гематоксилином. Ув. 400

Последний был окружен клеточным валом, состоящим, в основном, из лимфоцитов и плазматических клеток. Мицелий септированный с разветвлениями под острым углом (40–45°) (Рис. 3).

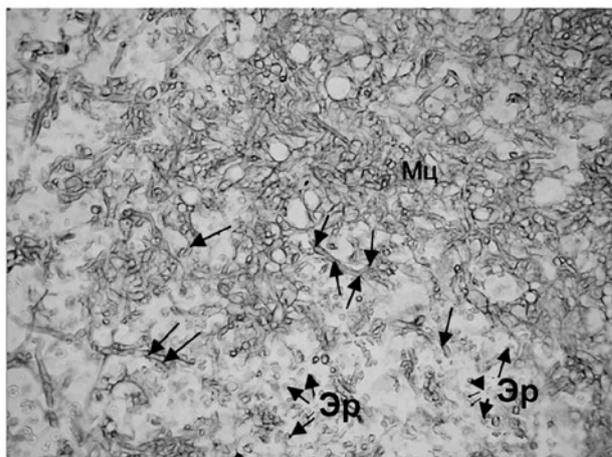


Рис. 3. Гифы *Aspergillus* sp., ветвящиеся под острым углом. (Мц – мицелий, ↑ – септы мицелия, Эр – эритроциты). ШИК-реакция с докраской гематоксилином. Ув. 400

На отдельных участках между гифами визуализировались множественные эритроциты, что может быть как результатом взятия биопсии, так и васкулопатией, возникающей в ходе воспаления СО ВЧП. Сосуды в 82,3±2,1% – с признаками сладжа и тромбоза эритроцитов (в контроле – 1,2±0,2%, p < 0,05).

При исследовании субпопуляций лимфоцитов выявили незначительное увеличение CD3 над CD20 и CD4+ над CD8+ клетками (табл.). Соотношение CD4:CD8 составило 1,2 : 1. Маннанные компоненты клеточной стенки грибов обладают иммуномодулирующим действием и способны угнетать функцию лимфоцитов [11]. Высокое содержание CD8 свидетельствует о снижении местного иммунитета СО ВЧП и способствует тканевой диссеминации грибов. Как указывают К. V. Clemons с соавторами [12], развитие инвазивных форм аспергиллеза связано с недостаточной активацией Т-хелперов 1-го типа и доминированием Т-хелперов 2-го типа. Последние, в свою очередь, вызывают дегрануляцию тучных клеток, что приводит к высвобождению вазоактивных веществ (гистамина, гепарина, лейкотриенов и др.) [13]. С одной стороны, это способствует усилению клеточной инфильтрации собственной пластинки СО ВЧП, с другой – повышению тромбообразования и выходу форменных элементов крови за пределы сосудистой стенки. Подтверждением этому явились свежие геморрагии и плазморрагии в собственной пластинке СО ВЧП (Рис. 1) и положительная корреляционная зависимость между содержанием CD 4+ и тучных клеток (r=0,57, p=0,009).

При электронно-микроскопическом исследовании обнаружили эпителиоциты разнообразной формы: кубической, призматической, уплощенной, многоугольной формы. Зачастую клетки не образовывали контактов друг с другом (Рис. 4 а, б).

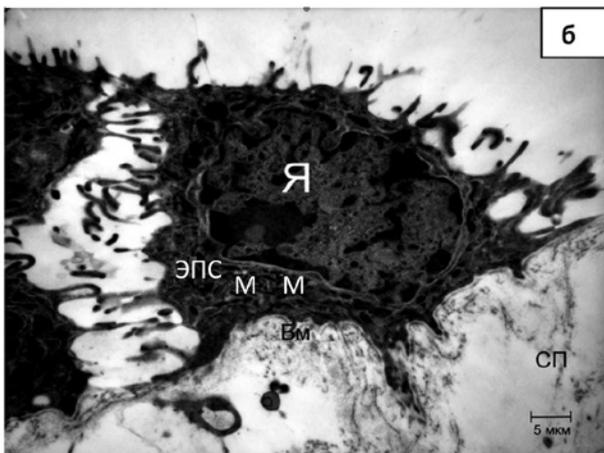
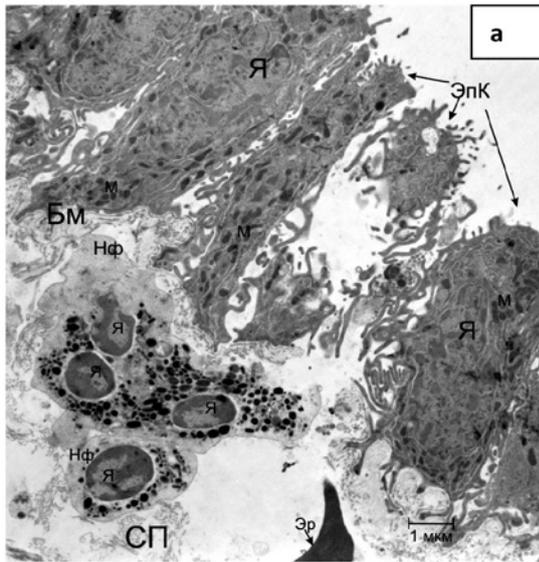


Рис. 4 а, б. Нарушение межклеточных контактов в эпителии СО ВЧП у пациента с инвазивной формой одонтогенного синусита (Я – ядро, М – митохондрии, Бм – базальная мембрана, Нф – нейтрофил, Эр – эритроцит, СП – собственная пластинка, ЭПС – эндоплазматическая сеть)

Цитоплазма формировала многочисленные длинные отростки. На апикальной поверхности эпителиоцитов наблюдали цитоплазматические выросты, напоминающие микроворсинки. Гетерохромные ядра располагались в центральной или апикальной частях клеток. Вследствие множественных инвагинаций оболочки ядра приобретали лопастную или двудольчатую форму. Ядрышко крупное с преобладанием гранулярного компонента, расположено эксцентрично. Клетки отличались высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. В осмиофильной цитоплазме эпителиоцитов отчетливо определялись митохондрии, короткие, диффузно расположенные цистерны гранулярной эндоплазматической сети (ЭПС). Митохондрии имели электронно-плотный гомогенный матрикс. Кристы не визуализировались. Перинуклеарно и в базальном отделе клеток отчетливо определялись толстые пучки спирально ориентированных тонофиламентов. Все это свидетельствовало об интенсивных белок-синтетической и пластической функциях эпителиоцитов и, как след-

ствии, высоких репаративных возможностей эпителия. В связи с этим можем предполагать, что такие «темные» клетки являются предшественниками специализированных эпителиоцитов. Это согласуется с данными К. Fukazawa et al. [14].

Базальная мембрана на всем протяжении образовывала множественные глубокие складки. Ее светлая часть была неравномерно утолщена на всем протяжении. Непосредственно под базальной мембраной располагались нейтрофильные лейкоциты (Рис. 4 а). В собственной пластинке около 2/3 лимфоцитов находились в активированном состоянии, о чем свидетельствовало наличие множественных псевдоподий и глубокие инвагинации ядра. В цитоплазме большинства плазмоцитов визуализировались тельца Русселя на разных стадиях их формирования, часть из которых находилась в состоянии активной секреции (Рис. 5).

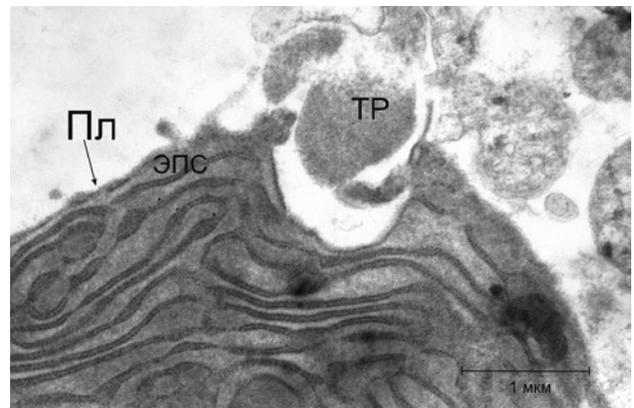


Рис. 5. Фрагмент плазматической клетки (Пл) с активной секрецией иммуноглобулинов (ТР – тельца Русселя, ЭПС – эндоплазматическая сеть)

Эпителиоидные клетки везикулированного типа (тип В) зачастую располагались в непосредственной близости к фибробластам (Рис. 6).

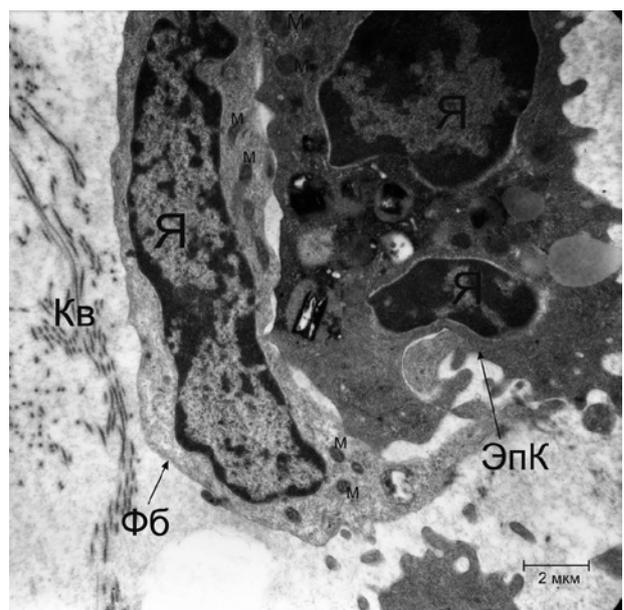


Рис. 6. Фрагмент эпителиоидной клетки (ЭпК) и фибробласта (Фб) в собственной пластинке СО ВЧП (Кв – коллагеновые волокна)

Коллагеновые волокна теряли свою правильную ориентацию. Нередко визуализировались участки их фибриноидных изменений.

В глубоких отделах собственной пластинки СО ВЧП выявляли вегетативный мицелий *Aspergillus* sp. Клетки вегетативного мицелия находились на разных стадиях своего развития – от молодых до стареющих (Рис. 7).

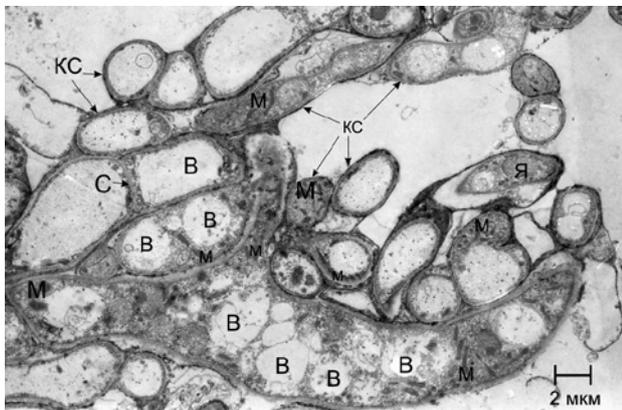


Рис. 7. Клетки мицелия *Aspergillus* sp. в собственной пластинке СО ВЧП (С – септа, В – вакуоли, КС – клеточная стенка, Я – ядро, М – митохондрии)

Подробное описание ультраструктуры *Aspergillus* sp. дано в работах А.А. Степановой, И.А. Синицкой [15-17]. По периферии мицелий окружен нейтрофильными лейкоцитами, лимфоцитами, фибробластами и участками лизиса ткани. Нейтрофилы находились в активированном состоянии, о чем свидетельствовало наличие большого числа псевдоподий, содержащих специфические гранулы. Зачастую наблюдали проникновение нейтрофилов между клетками вегетативного мицелия (Рис. 8).

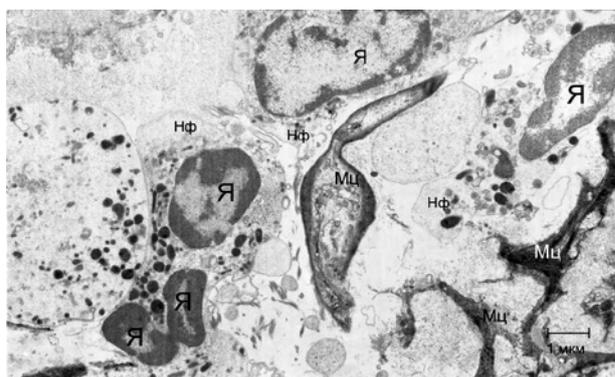


Рис. 8. Проникновение нейтрофилов между клетками мицелия *Aspergillus* sp. (Я – ядро, Мц – мицелий, Нф – нейтрофил).

Ни в одном случае явления фагоцитоза не зарегистрировали. Некоторые фибробласты, расположенные по периферии мицелия, находились в стадии активного коллагеногенеза. Тем не менее, на отдельных участках ограничивающая фиброзная капсула отсутствовала.

Существенные изменения обнаружили в ультраструктурной организации микрососудов СО ВЧП. Ядра эндотелия имели продолговатую форму с глубокими инвагинациями нуклеолеммы. Отростки эндотелиальных клеток утолщены. Умеренной плотности цитоплазма содержала в околоядерной зоне митохондрии с хлопьевидным матриксом и разрушающимися кристами. Цистерны ЭПС не определялись. Апикальная плазмалемма преимущественно имела ровный контур, иногда – с единичными инвагинациями. Микропиноцитозные везикулы не наблюдали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При хроническом инвазивном аспергиллезе СО ВЧП имеют место следующие особенности: выраженная клеточная инфильтрация собственной пластинки, обширные гемorragии, зоны фокального некроза. При этом обнаружили преобладание воспалительных изменений над некротическими. Несмотря на выявленную однослойную метаплазию, в эпителиоцитах наблюдали интенсивные белок-синтетические и пластические процессы, что может указывать на высокие репаративные возможности эпителия.

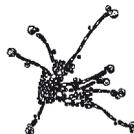
ЛИТЕРАТУРА

1. Challa S., Uppin S. G., Hanumanthu S. et al. Fungal rhinosinusitis: a clinicopathological study from South India // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 2010. – Vol. 267. – P. 1239-1245.
2. Stringer P. S., Ryan M. W. Chronic invasive fungal rhinosinusitis // Otolaryngol. Clin. North Am. – 2000. – Vol. 33. – P. 375-387.
3. Chakrabarthi A., Das A., Panda W. K. Overview of fungal rhinosinusitis // Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2004. – Vol. 56. – P. 251-258.
4. Michael R. C., Michael J. S., Ashbee R. H., Mathews M. S. Mycological profile of fungal sinusitis: an audit of specimens over a 7-year period in a tertiary care hospital in Tamil Nadu. Indian // J. Pathol. Microbiol. – 2008. – Vol. 51. – P. 493-496.
5. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. Грибковые инфекции: Руководство для врачей. – М: БИНОМ, 2008. – 480 с.
6. Клясова Г. А. Инвазивные микозы в онкогематологии: современное состояние проблемы // Современная онкология. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 61-65.
7. Gupta A. K., Ghosh S. Sinonasal aspergillosis in immunocompetent Indian children: an eight-year experience // Mycoses. – 2003. – Vol. 46. – P. 455-461.
8. Эллингиди В. Н., Анিকেва Н. В., Максимова Н. А. Практическая иммуногистоцитохимия: Методические рекомендации. – СПб: ВЦЭРМ МЧС России, 2002. – 36 с.

9. Каруну В. Я. Электронная микроскопия. – Киев: «Вища школа», 1984. – 208 с.
10. Байдик О. Д., Долгун Д. А., Логвинов С. В., Бирицкая Е. В. Особенности структурной организации слизистой оболочки верхнечелюстной пазухи в юношеском возрастном периоде (по данным электронной микроскопии) // Медицина в Кузбассе. – 2009. – № 2. Спецвыпуск. – С. 13-14.
11. Клиническая иммунология и аллергология /Под ред. А. В. Караулова./ М.: Медицинское информационное агентство, 2002. – 651 с.
12. Clemons K. V., Calich V. L., Burger E. et al. Pathogenesis I: interactions of host and fungi // Med. Mycol. – 2000. – Vol. 38. – Suppl. 1. – P. 99-111.
13. Яглова Н. В. Тучные клетки и врожденный иммунитет // Иммунология. – 2009. – № 2. – С. 139-143.
14. Fukazawa K., Ogasawara H., Umetoto M. et al. Regeneration of epithelial cells of the maxillary sinus mucosa in chronic sinusitis // Med. Electron Microsc. – 1998. – Vol. 31. – P. 10-15.
15. Степанова А. А., Сеницкая И. А. Ультраструктура клеток *Aspergillus niger* van Thieghem. Вегетативный мицелий // Пробл. мед. микологии. – 2003. – Т. 5, № 4. – С. 32-39.
16. Степанова А. А., Сеницкая И. А. Субмикроскопическое изучение клеток вегетативного мицелия *Aspergillus flavus* Fres. // Пробл. мед. микологии. – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 34-40.
17. Степанова А. А., Сеницкая И. А. Ультраструктура клеток вегетативного мицелия *Aspergillus flavus* Link, выращенного in vitro // Пробл. мед. микологии. – 2006. – Т. 8, № 1. – С. 40-45.

Поступила в редакцию журнала 27.06.2011

Рецензент: А.А. Степанова



УДК 616.992.282:717.017.1:616.9

ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ, ПОЛУЧАВШИХ ЛЕЧЕНИЕ ПРЕПАРАТОМ «ГЕМАЛИН»

Мавлянова Ш.З. (с.н.с.)^{*}, Алимухамедова Ю.А. (к.м.н.), Гулямова Г.Ш. (с.н.с.), Есионова Е.В. (н.с.), Муминова С.Р. (н.с.)

Республиканский научно-практический медицинский центр дерматологии и венерологии МЗ РУз, Ташкент

© Коллектив авторов, 2011

Приведены данные об иммунокорректирующем эффекте препарата «Гемалин», который получали больные с атопическим дерматитом с микогенной сенсibilизацией. Описан характер изменений параметров некоторых про- и противовоспалительных цитокинов, общего IgE на фоне терапии «Гемалином».

Ключевые слова: атопический дерматит, «Гемалин», иммунитет, кандидозная сенсibilизация, лечение

CHANGES IN SOME IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS TREATED WITH DRUG «GEMALIN»

Mavlyanova Sh.Z. (senior scientific researcher), Alimuhamedova Yu.A. (M.D.), Gulyamova G.Sh. (senior scientific researcher), Yesionova Ye.V. (scientific researcher), Muminova S.R. (scientific researcher)

Republican Scientific and Practical Medical Center of Dermatology and Venereology of Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent

© Collective of authors, 2011

Patients with atopic dermatitis with fungal sensitization have been received the immunocorrective drug «Gemalin». Nature of the changes of parameters of some pro- and antiinflammatory cytokines, total IgE in «Gemalin»-therapy have been described.

Key words: atopic dermatitis, Candida sensitization, «Gemalin», immunity, therapy

^{*} Контактное лицо: Мавлянова Шахноза Закировна
Тел.: (99871) 214-50-01

Атопический дерматит (АД) представляет собой аллергическое полиэтиологическое заболевание с наследственной предрасположенностью полигенного характера, в патогенезе которого важное значение придают иммунологическим, нейроэндокринным, вегето-сосудистым нарушениям, преимущественным поражениям кожи и многочисленным факторам окружающей среды [1-6].

Ведущий иммунопатологический механизм заключается в двухфазном изменении Т-хелперов (Th-1 и Th-2). В острую фазу происходит активация Th-2, приводящая к образованию IgE-антител. Хроническая фаза болезни характеризуется преобладанием Th-1 [1, 2].

В роли иммунного пускового механизма выступает взаимодействие аллергенов с IgE-антителами (реагинами) на поверхности тучных клеток и базофилов. Ранее проведенными исследованиями доказано существование нескольких генов, имеющих отношение к основной иммунологической аномалии атопии – образованию IgE в ответ на аллергены окружающей среды [3, 6].

Однако, как полагают отдельные авторы, маловероятно, что такое хроническое рецидивирующее заболевание, как атопический дерматит, является только результатом наличия аномального IgE-ответа на окружающие аллергены [2, 7]. В научной литературе имеются данные как о системной иммуносупрессии у больных АД, так и о сниженном клеточно-опосредованном иммунитете в самой коже [2].

Важную роль в поддержании хронического воспалительного процесса в коже при АД отводят условно-патогенной микробиоте (грибковой и бактериальной) [8, 9]. Она участвует в патогенезе заболевания путем индукции аллерген-специфических IgE, развития сенсibilизации и дополнительной активации дермальных лимфоцитов. При этом длительная колонизация и их персистенция в биосубстратах организма у больных АД способствует развитию сенсibilизации организма.

Среди бактериальных агентов важное значение придают стафилококкам, в частности *Staphylococcus aureus*, который высевают в 80-90% случаев с кожи больных АД без признаков гнойного процесса [7, 8], тогда как среди микобиоты особое место занимают *Candida* spp. [7, 9, 10]. Так, по данным Мавляновой Ш.З. (2004) и Петрова С.С. с соавт. (2005), сенсibilизация к *Candida* составляла 34,5%, кожные пробы к *Candida* были положительными у 89% детей-атопиков, а высокий титр IgE к *Candida* выявляли у 60% больных [10, 11]. При этом назначение противогрибковых и антибактериальных препаратов обосновано и оправдано и, как правило, было с положительным результатом. Однако элиминация возбудителя приводила к кратковременному эффекту, так как сохраняющееся иммунодефицитное состояние способствовало реинфекции [10, 12].

Цель исследования – оценка иммунокорректирующего эффекта препарата «Гемалин» в комплексном

лечения больных с atopическим дерматитом с микогенной сенсibilизацией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находились 45 больных с atopическим дерматитом в возрасте от 15 до 48 лет с давностью заболевания от 6 месяцев до 10 лет. Всем больным проводили клинические (SCORAD – SCORing Atopic Dermatitis, ДИКЖ – дерматологический индекс качества жизни, ДИШС – дерматологический индекс шкалы симптомов), иммунологические и микологические исследования через месяц после окончания курса лечения.

Определение относительного количества Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-супрессоров осуществляли методом непрямого розеткообразования с нагруженными моноклональными антителами (производства института иммунологии, Россия).

Содержание специфических иммуноглобулинов IgG к антигену *Candida albicans*, общего иммуноглобулина IgE и ИЛ-4, ИЛ-6 в сыворотке крови выявляли с помощью иммуноферментных тест-систем «Вектор-Бест» (Новосибирск). Всем больным проводили микологическое (микроскопическое и культуральное) исследование биосубстратов слизистой оболочки полости рта и кишечника с определением количества клеток *Candida spp.*

Для изучения эффективности лечения пациенты были разделены на 2 группы: контрольная группа – больные АД (20 человек), получавшие комплексную терапию (гипосенсибилизирующую, антигистаминную и антимикотическую; наружно – противовоспалительную), и основная группа (25 человек) – больные АД, помимо основной комплексной терапии, получавшие препарат «Гемалин» по схеме. 15 человек составили группу здоровых лиц.

«Гемалин» – препарат отечественного производства фирмы «Толерант», действующим веществом которого является комплекс пептидов животного происхождения. Препарат имеет разрешение Фарм-Комитета РУз на применение в практическом здравоохранении; с 2005 года проходил апробацию в клинике нашего института у больных псориазом, нейродерматозами и микозами стоп, витилиго в качестве иммунокорректирующего препарата. «Гемалин» оказывает иммуномодулирующее действие, стимулирует процесс образования антител и кооперативный иммунный ответ Т- и В-клеток, а также оказывает подавляющее действие на функциональную активность Т-клеток супрессоров, стимулирует влияние на функциональную активность макрофагов, Т-лимфоцитов и естественных киллеров, повышает неспецифический иммунитет организма и фагоцитоз, снижает чувствительность к инфекционным агентам. Препарат «Гемалин» 10,0 мл назначали по схеме: I-й день – 1,0 мл в/м, II-й день – 1,5 мл, III-й день – 2,0 мл, IV-й день – 2,5 мл, V-й день – 3,0 мл в/м, после 3-х дневного перерыва – по 3,0 мл в/м через день №6.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По клинической форме у больных АД различали: эритематозную форму – у 7, эритематозно-сквамозную форму с лихенификацией – у 8, экссудативную форму – у 14, лихеноидную – у 10, пруригинозную – у 6.

По результатам иммунологических исследований у больных АД до проведенного лечения отмечали достоверно повышенное содержание специфических IgG к антигену *C. albicans*, что, в среднем, составило $1,01 \pm 0,02$ пг/мл, по сравнению с контрольной группой – $0,252 \pm 0,03$ пг/мл ($P < 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1.

Показатели цитокинового (ИЛ-4, ИЛ-6) и гуморального (IgE) статусов у больных АД на фоне терапии «Гемалином»

Показатели	Контрольная здоровая группа N=15	Больные АД до лечения N=45	Больные АД после лечения (трад. терапия) N=20	Больные АД после лечения (трад. терапия с гемалином) N=25
<i>C. albicans</i> Пг/мл	$0,2 \pm 0,03$	$1,01 \pm 0,02^*$	$0,5 \pm 0,047^{**}$	$0,23 \pm 0,02^{**}$
IgE ME/мл	$27,5 \pm 6,8$	$315,8 \pm 9,2^*$	$140,6 \pm 19,6^{**}$	$97,13 \pm 4,7^{**}$
ИЛ-4 Пг/мл	$2,5 \pm 0,08$	$5,8 \pm 0,3^*$	$2,5 \pm 0,46^{**}$	$0,9 \pm 0,3^{**}$
ИЛ-6 Пг/мл	$0,3 \pm 0,013$	$0,8 \pm 0,3^*$	$18,4 \pm 5,4^{**}$	$9,7 \pm 1,6^{**}$

Примечание: * - показатель достоверности по отношению к здоровым лицам; ** - показатель достоверности до лечения.

Согласно полученным данным, выявили кандидозную сенсibilизацию в организме больных АД. Отметим, что повышенную чувствительность к *Candida spp.* наблюдали во всех клинических формах АД. Такое явление можно объяснить высокой обсемененностью биосубстратов (слизистой оболочки полости рта, кишечника) *Candida spp.* [9, 11]. Так, у 36,4% больных АД на слизистой оболочке полости рта обнаружили почкующиеся *Candida spp.*, тогда как в кишечнике обсемененность этими грибами у 36,4% пациентов была более 10^4 КОЕ/г.

При исследовании количественного содержания общего IgE в сыворотке крови больных АД до проведенного лечения обнаружили резко повышенное его содержание, что, в среднем, составило $315,8 \pm 9,2$ ME/мл против группы контроля – $27,5 \pm 6,8$ ME/мл ($P < 0,05$).

Известно, что *Candida spp.* и их антигены являются достаточно сильными индукторами аллергии и аллергических реакций различных типов на фоне иммунологической недостаточности [9, 12, 13]. При этом, на наш взгляд, важное значение играет клеточная реакция иммунной системы.

Как видно из таблицы 1, у больных АД имело место снижение Т-клеточного звена иммунитета, дисбаланс субпопуляционного состава Т-лимфоцитов, что приводило к статистически достоверному сниже-

нию иммунореактивного инсулина (ИРИ) по сравнению со здоровыми лицами, активации В-клеточного звена иммунитета и повышению уровня ЦИК. При оценке цитокинового статуса у больных АД отмечали достоверное повышение содержания ИЛ-4 ($5,8 \pm 0,3$ пг/мл против $2,5 \pm 0,08$ пг/мл контрольной группы, $p < 0,05$), тогда как уровень ИЛ-6 в 1,6 раза снижался по сравнению со здоровыми лицами, что свидетельствовало о нарушении функциональной активности про- и противовоспалительных цитокинов (табл. 2).

Таблица 2.

Сравнительная характеристика показателей иммунной системы на фоне патогенетической терапии

Показатели	Т-л%	В-л%	Т-х%	Т-с%	ИРИ	ЦИК
Здоровые N=26	$61,8 \pm 2,13$	$13,3 \pm 1,46$	$36,2 \pm 1,2$	$18,5 \pm 1,2$	$1,9 \pm 0,08$	$14,5 \pm 3,18$
Б-е АД до лечения	$50,0 \pm 0,4^*$	$22,3 \pm 0,3^*$	$31,0 \pm 0,3^*$	$19,7 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,03^*$	$24,9 \pm 0,06^*$
Б-е АД после лечения с гемалином	$56,2 \pm 0,08^{**}$	$19,6 \pm 0,32^{**}$	$34,8 \pm 0,08^{**}$	$21,4 \pm 1,03^*$	$1,6 \pm 0,02^{**}$	$18,5 \pm 1,04^{**}$
Б-е АД, получавшие традицион. терапию	$50,2 \pm 0,9$	$21,1 \pm 0,6$	$30,8 \pm 0,3$	$22,4 \pm 0,7$	$1,4 \pm 0,02$	$20,7 \pm 0,4^*$

Примечание: * - показатель достоверности по отношению с показателями здоровых лиц; ** - показатель достоверности по отношению к показателям у больных, получавших традиционное лечение.

На основании полученных данных можно предположить, что выявленное повышение ИЛ-4 у больных атопическим дерматитом приводило к усиленной выработке IgE. ИЛ-4 повышал экспрессию на В-лимфоцитах и тучных клетках CD23-низкоаффинного рецептора для IgE, который потенцировал выработку иммуноглобулина Е.

Как видно из таблицы 2, традиционное лечение не способствовало полной иммунной коррекции показателей иммунного статуса у больных АД, кроме показателей ЦИК. Однако данный показатель статистически достоверно находился на высоком уровне по сравнению с показателями у здоровых лиц ($p < 0,05$). Отметим, что при традиционном лечении снижались концентрации IgG к *Candida*, IgE и ИЛ4 в 2,02 и 2,24 раза соответственно ($p < 0,05$), однако уровень ИЛ6 резко повышался в 23 раза, что, на наш взгляд, свидетельствовало о тяжелом течении заболевания на фоне иммунологических нарушений организма. Подобное явление можно объяснить некон-

тролируемой повышенной выработкой интерлейкина на фоне традиционной терапии без применения иммунокорректоров (табл. 2).

Назначение «Гемалина» на фоне комплексного лечения способствовало выраженной коррекции Т-клеточного звена иммунитета, повышению ИРИ в 1,06 раза по сравнению с данными до лечения, снижению уровней ЦИК ($p < 0,05$). Положительную динамику отмечали в цитокиновом статусе и в гуморальном звене иммунитета (табл. 2).

Так, после патогенетического лечения наблюдали значительное снижение показателей ИЛ-4 в 6,4 раза ($p < 0,05$), общего IgE – в 3,25 раз и IgG к *Candida* в 4,4 раз соответственно, что имело достоверный характер, тогда как уровень ИЛ-6 повышался в незначительных количествах, по сравнению с традиционным лечением, что свидетельствовало об иммуномодулирующем эффекте «Гемалина».

Анализируя полученные результаты, можно сказать, что у больных АД, сенсibilизированных *S. albicans*, отмечали нарушения в иммунологической цепочке, что выражалось гиперпродукцией общего IgE в сыворотке крови. Лимфокиновый профиль у больных АД характеризовался усилением секреции ИЛ-4, являющихся основным фактором индукции синтеза IgE. Это является патогенетическим обоснованием включения иммунокорректоров в базисную терапию АД.

Препарат «Гемалин» обладает высокой неспецифической активностью, действуя на различные звенья иммунного процесса, способностью коррекции дисбаланса Th1- и Th2-лимфоцитов и, соответственно, цитокинового профиля, что особенно важно при IgE-опосредованных заболеваниях, каковыми и является АД. Наблюдаемое снижение уровня общего IgE, специфических IgG к *S. albicans*, снижение ИЛ-4 в сыворотке крови больных АД свидетельствует об иммунокорректирующем влиянии препарата.

Положительную динамику патогенетической терапии с применением «Гемалина» отмечали и в клинических показателях АД, которая выражалась в снижении индекса SCORAD в 2,2 раза по сравнению с данными до лечения ($p < 0,05$), уменьшении показателей дерматологического индекса (ДИШС и ДИКЖ). Отметим, что побочных действий от препарата «Гемалин» при лечении (ухудшение общего состояния больного, обострение кожно-патологического процесса) мы не наблюдали.

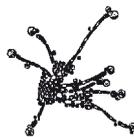
Таким образом, включение «Гемалина» в комплексное лечение АД вызвало более выраженный позитивный эффект, поэтому препарат может быть использован в практической дерматологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глухенский Б.Т., Грандо С.А. Клинические формы атопического нейродермита // Вестн. Дерматол.- 1990. – №4. – С. 37-42.
2. Калюжная Л.Д. Атопический дерматит и сухость кожи //Русский Медицинский журнал. – 2009. – №3. – С. 12-17.
3. Кунгузов Н.В., Калюжная В.А. Особенности типов течения атопического дерматита // Вестн. дермат. и венерологии. – 2000. – №1. – С. 19-21.
4. Огородова Л.М., Козина О.В., Раенко В.Ф., Ломан Э.А. Сравнительная характеристика содержания IgE у детей с атопическими заболеваниями, протекающими на фоне персистирующих инфекций //Аллергология. – 2005. – №5. – С. 13-16.
5. Bas J.D., Sillevs J.H. Atopic dermatitis // JEADV. – 1996. – Vol. 7. – P.101-114.
6. Correale C.E., Walker C., Murphy L., et al. Atopic dermatitis: a review of diagnosis and treatment // Am. Family Phys. – 1999. – Vol. 60, № 4 – P.1191-1197.
7. Сергеев Ю.В., Зимин Ю. Н. и соавт. Атопический дерматит. Особенности клинического течения и состояния иммунного статуса в зависимости от исходного уровня Ig E-сыворотки // Вест. Дерматол. – 1989. –№3. – С. 8-12.
8. Мавлянова Ш.З., Эшбаев Э.Х., Боймирзаев Н.И. Оценка степени процесса колонизации *S. aureus* в динамике лечения при отдельных хронических заболеваниях кожи //Дерматовенерология и эстетическая медицина. –2010. –№4. – С. 36-39.
9. Соболев А.В. Клинико-иммунологическая характеристика, некоторые аспекты профилактики аллергических заболеваний, вызванных грибами рода *Candida*: Автореф. дисс... канд.мед.наук. – Л., 1989.
10. Петров С.С., Сизякина А.П., Гребенников В.П. эффективность полиоксидония в комплексной терапии детей, больных атопическим дерматитом, осложненным микотической терапией //Иммунология. –2005. –№4. – С. 244-248.
11. Мавлянова Ш.З. Клинико-иммунологическая характеристика микотических поражений кожи и слизистых оболочек: Автореф. дисс... докт. мед.наук. – Ташкент, 2004. – 41 с.
12. Шабашова Н.В. иммуномодуляция как перспективный способ патогенетической терапии микозов // Проблемы медицинской микологии. – 2000. – Том 2,№2. – С. 34.
13. Пампура А.В., Святкина О.Б., Бобровская Т.А. и др. Значение определения ИЛ-4 и ИЛ-5 у детей с атопическим дерматитом для оценки тяжести, течения и прогноза заболевания //Педиатрия. – 2001. – №27. – С. 13-16.

Поступила в редакцию журнала 14.04.2011

Рецензент: Н.В. Шабашова



КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ МИКОЗОМ СТОП У СТАРШИХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

Имамов О.С. (ассистент кафедры)*

Кафедра кожных и венерических болезней
Ташкентской Медицинской Академии, Узбекистан

© Имамов О.С., 2011

Отмечена терапевтическая эффективность препаратов «Витацинк» и «ФарГАЛС» у больных микозами стоп пожилого и старческого возраста с учетом метаболических нарушений организма. «Витацинк» и «ФарГАЛС» оказывают положительный терапевтический эффект, способствуют более раннему регрессу патологических элементов, полной микологической негативации и восстанавливают дисбаланс метаболических показателей организма.

Ключевые слова: «Витацинк», микоз стоп, микологическая негативация, «фарГАЛС», ферменты метаболизма

COMPLEX TREATMENT OF PATIENT WITH FEET MYCOSES IN ADULT GROUPS

Imamov O.S. (assistant of chair)

Department of Dermatology and Venerology Diseases,
Tashkent Medical Academy, Uzbekistan

© Imamov O.S., 2011

Therapeutic effectiveness of «Vitazink» and «FarGALS» in patients with feet mycoses in adult group with measuring of metabolic disturbance have been marked. «Vitazink» and «FarGALS» have positive therapeutic effect, influence to early elimination of pathologic process and mycological negativation and restoring disbalance of the body.

Keywords: enzymes of a metabolism, «FarGALS», feet mycosis, mycologic negativation, «Vitazink»

ВВЕДЕНИЕ

В связи с увеличением средней продолжительности жизни людей во всем мире в последние годы все больше внимания уделяют вопросам геронтологии и гериатрии. По оценкам специалистов ООН, в 2001 году в мире насчитывали 125 млн. лиц позднего пожилого возраста, а численность населения в возрасте 80 лет и старше возросла на 54% [1]. В XX веке количество пожилых людей в развитых странах мира увеличилось примерно с 4 до 13% [2, 3].

Одной из наиболее сложных проблем в микологии является лечение микозов стоп и онихомикозов у лиц преклонного возраста. Это обусловлено наличием серьезных сопутствующих заболеваний, приводящих к возникновению и торпидному течению грибковой инфекции, что позволяет отнести данных лиц к группе риска [4]. Для пациентов позднего пожилого возраста характерен ряд сопутствующих заболеваний: сердечная недостаточность, заболевания почек, печеночная недостаточность, хронические обструктивные заболевания легких, гипертония, сахарный диабет [1].

Лечение микозов стоп у лиц пожилого и старческого возраста, обремененных, как известно, разнообразными заболеваниями, требует особой осмотрительности. Как правило, оно должно включать санацию онихомикозов, так как у подобной категории больных они являются за редким исключением постоянными спутниками микозов стоп [5, 6].

При старении человека биохимический состав соединительной ткани претерпевает качественные и количественные изменения, в частности, увеличивается неупорядоченность коллагеновых волокон, меняется состав и уменьшается количество протеогликанов, нарушается ионное равновесие тканей и т.д. [7,8], что может отображаться на клинических вариантах микоза стоп.

Общепринятые методы лечения предусматривают применение противогрибковых препаратов и местных кератолитических средств [9-14]. Широкое использование данной схемы у больных пожилого и старческого возраста имеет относительное противопоказание, так как при применении кератолитических средств повреждается целостность прилежащих к ногтевой пластине тканей и резко возрастает риск развития осложнений стопы. К тому же эффективность традиционной терапии часто бывает невысока. Эти обстоятельства диктуют необходимость назначения комбинированного лечения микозов стоп с применением системного и местного антимикотика. Однако у больных пожилого и старческого возраста, кроме эффективности антимикотических препаратов, большое значение имеет вопрос безопасности их применения.

Следуя из вышеизложенного, целесообразно дальнейшее усовершенствование методики лечения больных микозами стоп и онихомикозов пожилого и старческого возраста для повышения терапевтиче-

* Контактное лицо: Имамов Отабек Суннатович
Тел.: +998-712-41-54-54

Таблица 1.

Показатели ферментов метаболизма соединительной ткани у больных пожилого и старческого возраста с микозом стоп (M±m)

Исследованные ферменты	Контрольная группа, n=16	Больные микозом стоп, n=66
Гексозамины в крови, ммоль/л	1,39 ± 0,03	2,84 ± 0,13*
Гексозы в крови, ммоль/л	6,11 ± 0,07	9,40 ± 0,29*
Сиаловая кислота в крови, ммоль/л	2,27 ± 0,05	4,22 ± 0,22*
Оксипролин в крови, мкг/мл	9,38 ± 0,51	17,22 ± 0,42*
СРБ в крови, мг/л	2,81 ± 0,27	6,66 ± 0,15*
Гексурановые кислоты в моче, мг/л	3,14 ± 0,12	4,84 ± 0,11*
Оксипролин в моче, мг/сутки	24,12 ± 1,36	46,48 ± 0,65*

Примечание: * – достоверность различий при $p < 0,001$

Анализируя состояние показателей метаболизма соединительной ткани в моче, обнаружили, что у больных микозом стоп пожилого и старческого возраста количество гексурановой кислоты и оксипролина, в среднем, составляло $4,84 \pm 0,11$ мг/л и $46,48 \pm 0,65$ мг/сутки соответственно, в контроле – $3,14 \pm 0,12$ мг/л и $24,12 \pm 1,36$ мг/сутки соответственно. Это указывает на статистически достоверное повышение содержания как гексурановой кислоты, так и оксипролина у больных микозом стоп пожилого и старческого возраста по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$).

Из вышеизложенного следует, что при микозе стоп у лиц пожилого и старческого возраста имели место нарушения в процессах метаболизма соединительной ткани, что может быть использовано в разработке патогенетической терапии микоза.

В дальнейших исследованиях мы изучали состояние показателей метаболизма соединительной ткани у больных микозами стоп в зависимости от клинической формы заболевания (сквамозная форма – у 39 больных, интертригинозная – у 19 и дисгидротическая – у 8 больных).

При всех формах микоза в сыворотке крови отмечали достоверное увеличение содержания гексозаминов ($2,33 \pm 0,08$ ммоль/л, $3,21 \pm 0,18$ ммоль/л и $4,45 \pm 0,55$ ммоль/л соответственно), гексоз ($8,40 \pm 0,15$ ммоль/л, $9,31 \pm 0,26$ ммоль/л и $14,47 \pm 0,97$ ммоль/л соответственно), сиаловых кислот ($3,01 \pm 0,06$ ммоль/л, $5,11 \pm 0,15$ ммоль/л и $7,97 \pm 0,52$ ммоль/л соответственно), оксипролина ($16,21 \pm 0,41$ мкг/мл, $16,87 \pm 0,60$). Наиболее выраженное повышение содержания в сыворотке крови изученных ферментов наблюдали именно у больных дисгидротической формой микоза стоп.

Если у больных со сквамозной формой микоза стоп содержание в моче гексурановой кислоты и оксипролина, в среднем, составило $4,54 \pm 0,09$ мг/л и $43,38 \pm 0,53$ мг/сутки соответственно, а у больных интертригинозной формой микоза стоп $4,77 \pm 0,17$ мг/л и $48,80 \pm 0,69$ мг/сутки соответственно, то у больных дисгидротической формой микоза стоп данные показатели были равны, в среднем, $6,49 \pm 0,30$ мг/л и $56,10 \pm 0,57$ мг/сутки соответственно.

Независимо от клинических форм микоза стоп, наблюдали дисбаланс метаболизма соединительной

ской эффективности и минимизации побочных эффектов.

Цель исследования – изучение терапевтической эффективности препаратов «Витадинк» и «ФарГААС» (разрешены к применению в практическом здравоохранении ФармКомитетом республики Узбекистан) в комплексной терапии больных микозами стоп пожилого и старческого возраста с учетом метаболических нарушений организма.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 115 больных микозом стоп: в возрасте до 60 лет – 14 пациентов (12,2%), 61-70 лет – 28 (24,3%), 71-80 лет – 29 (25,2%) и в 81-90 лет – 44 (38,3%). Давность заболевания составила от 1 года до 40 лет, в том числе от 1 до 5 лет – у 43 больных (37,4%), от 6 до 10 лет – у 52 (45,2%) и свыше 10 лет – у 20 (17,4%).

Сквамозную форму микоза стоп диагностировали у 84 пациентов (73,0%), интертригинозную – у 23 (20,0%) и дисгидротическую – у 8 (7,0%). Отметим, что у всех обследованных лиц микоз стоп сочетался с онихомикозом стоп и у 23 (20,0%) – с онихомикозом стоп и кистей.

Содержание гексоз и гексозаминов в периферической крови определяли методом А.Готтшалка [15], сиаловых кислот – методом Л.И. Линевика [19], С-реактивного белка – методом В.В. Меньшикова и соавторов [17], гексурановой кислоты в моче – методом Дише [18], свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови и моче – методом П.Н.Шараева [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования проводили у 66 больных микозом стоп пожилого и старческого возраста. Контрольную группу составили данные 16 практически здоровых лиц аналогичного возраста.

При исследовании показателей метаболизма соединительной ткани в сыворотке крови и в моче выявили, что у здоровых лиц содержание гексозаминов в крови, в среднем, равнялось $1,39 \pm 0,03$ ммоль/л, гексоз – $6,11 \pm 0,07$ ммоль/л, сиаловых кислот – $2,27 \pm 0,05$ ммоль/л, оксипролина – $9,38 \pm 0,51$ мкг/мл и СРБ – $2,81 \pm 0,27$ мг/л. У лиц контрольной группы в моче уровень гексурановой кислоты, в среднем, составил $3,14 \pm 0,12$ мг/л и оксипролина – $24,12 \pm 1,36$ мг/сутки.

При аналогичных исследованиях, проведенных у больных микозом стоп пожилого и старческого возраста, в сыворотке крови отмечали статистически достоверное повышение содержания гексозаминов ($2,84 \pm 0,13$ ммоль/л при $1,39 \pm 0,03$ ммоль/л в контроле), гексоз ($9,40 \pm 0,29$ ммоль/л против $6,11 \pm 0,07$ ммоль/л в контроле), сиаловых кислот ($4,22 \pm 0,22$ ммоль/л при $2,27 \pm 0,05$ ммоль/л в норме), оксипролина ($17,22 \pm 0,42$ мкг/мл против $9,38 \pm 0,51$ мкг/мл у здоровых лиц) и СРБ ($6,66 \pm 0,15$ мг/л при $2,81 \pm 0,27$ мг/л в норме) по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$) (табл.1).

Таблица 2.

Сравнительный анализ эффективности проводимой терапии у больных микозом стоп пожилого и старческого возраста в зависимости от клинической формы заболевания ($M \pm m$)

Показатели	Клинические формы микоза стоп		
	Сквамозная, n=84	Интертригинозная, n=23	Дисгидротическая, n=8
Уменьшение кожного зуда, дни	$8,35 \pm 0,22$ $5,19 \pm 0,14$	$9,90 \pm 0,38$ $7,61 \pm 0,37$	$11,25 \pm 0,48$ $7,75 \pm 0,85$
Прекращение шелушения, дни	$19,38 \pm 0,27$ $15,17 \pm 0,22$	$20,30 \pm 0,47$ $16,00 \pm 0,37$	$21,00 \pm 0,41$ $17,50 \pm 0,64$
Заживление трещин, дни	$18,57 \pm 0,26$ $14,13 \pm 0,17$	$20,40 \pm 0,48$ $15,00 \pm 0,37$	$22,25 \pm 0,48$ $17,00 \pm 0,41$
Начало роста здоровых ногтей, дни	$73,59 \pm 0,36$ $64,68 \pm 0,27$	$75,30 \pm 0,42$ $72,00 \pm 0,48$	$78,25 \pm 0,63$ $74,00 \pm 0,41$

Примечание: в числителе – данные традиционной терапии, в знаменателе – данные комплексной терапии

ткани, наиболее выраженный при дисгидротической форме заболевания.

Полученные данные явились основанием для разработки оптимального комплексного метода лечения больных микозами стоп пожилого и старческого возраста.

Для оценки эффективности предлагаемого метода больные были распределены на две группы. Первая группа – 51 больной, получавший традиционный метод лечения (группа сравнения), включавший назначение противогрибковых препаратов (тербинафины), антигистаминных и десенсибилизирующих средств и местно – антимикотических мазей и кремов (микосептин, низорал, микозолон, клотримазол, ламизил и др.). Вторая группа (комплексная терапия) – 64 пациента, составляющие основную группу, которым на фоне традиционной терапии назначали препарат «Витацинк», местно – антисептическое и ранозаживляющее средство «ФарГААС».

«Витацинк» состоит, в основном, из протеина, витаминов (B_2 , B_6 , D_3) и цинка. Протеин, входящий в состав препарата, – основной строительный материал для организма, являющийся важнейшим компонентом мышц, внутренних органов, кровеносной и иммунной систем, кожи, волос, ногтей. Входит в состав ферментов, катализирует биохимические реакции, регулирует обмен веществ организма, транспортирует в клетку важные вещества для её жизнедеятельности. Витамин B_2 способствует процессам регенерации тканей, в том числе клеток кожи. Витамин B_6 способствует поддержанию структуры и функции костей, зубов, десен. Витамин D_3 играет важную роль в поддержании баланса кальция и фосфора в организме. Цинк участвует в биохимических реакциях организма, в процессе кроветворения, в деятельности желез внутренней секреции; он необходим для регенерации тканей, обмена веществ, заживления ран и поддержания в норме кожных покровов и волос. «ФарГААС» обладает широким спектром антимикробного действия. При местном нанесении усиливает обмен веществ в ткани, повышает потребление ею кислорода, ускоряет регенерацию поврежденных клеток тканей, способствует улучшению васкуляризации ишемизированных участков, ускоряет эпителизацию; благодаря содержанию в нем йода обладает выраженным противогрибковым свойством. Сироп «Витацинк» назначали по 1 столовой ложке 3 раза в день после еды в течение 25-30 дней. «ФарГААС» применяли в виде смазывания пораженных участков кожи 1-2 раза в сутки в течение 14 дней.

При исследовании терапевтической эффективности выявили (табл. 2), что у пациентов со сквамозной формой микоза стоп после традиционной терапии уменьшение кожного зуда и прекращение шелушения, в среднем, происходило на $8,35 \pm 0,22$ сутки и $19,38 \pm 0,27$ сутки соответственно, с интертригинозной – на $9,90 \pm 0,38$ сутки и $20,30 \pm 0,47$ сутки, с дисгидротической – на $11,25 \pm 0,48$ сутки и $21,00 \pm 0,41$ сутки.

Заживление трещин после традиционного лечения началось у больных сквамозной формой, в среднем, на $18,57 \pm 0,26$ сутки, в то время как у больных интертригинозной формой – на $20,40 \pm 0,48$ сутки, дисгидротической – на $22,25 \pm 0,48$ сутки.

Восстановление ногтевой пластинки на фоне традиционной терапии у пациентов со сквамозной формой микоза стоп отмечали, в среднем, на $73,59 \pm 0,36$ сутки, с интертригинозной – на $75,30 \pm 0,42$ сутки, с дисгидротической – на $78,25 \pm 0,63$ сутки, что указывало на более тяжелое течение патологического процесса у больных дисгидротической формой микоза.

При использовании разработанного метода лечения у больных сквамозной формой микоза стоп уменьшение кожного зуда, в среднем, происходило на $5,19 \pm 0,14$ сутки, а интертригинозной и дисгидротической формами – на $7,61 \pm 0,37$ сутки и $7,75 \pm 0,85$ сутки соответственно, прекращение шелушения – на $15,17 \pm 0,22$ сутки, $16,00 \pm 0,37$ сутки и $17,50 \pm 0,64$ сутки лечения соответственно (табл. 2). У больных данных групп на фоне проведенной терапии заживление трещин происходило на $14,13 \pm 0,17$ сутки, $15,00 \pm 0,37$ сутки и $17,00 \pm 0,41$ сутки лечения соответственно.

После комплексной терапии рост ровных, розовых, здоровых ногтей у больных со сквамозной формой начался на $64,68 \pm 0,27$ сутки, интертригинозной – на $72,00 \pm 0,48$ сутки и дисгидротической – на $74,00 \pm 0,41$ сутки лечения.

Важным критерием эффективности противогрибкового лечения является показатель микологической негативации. Для получения достоверных результатов сравнение повторных микологических анализов проводили через 2, 6 недель, 3 и 6 месяцев после окончания антимикотической терапии.

В результате исследования обнаружили, что к концу 2 недели традиционной терапии процент отрицательных результатов микроскопических исследований на грибы составлял 49,0%, а к 6 неделе полное микологическое излечение наступало у 41,2% больных. У 9,8% больных отрицательные анализы на

грибы были получены лишь на 3 месяце лечения.

При лечении микоза стоп у больных пожилого и старческого возраста комплексным методом микологическая негативация происходила значительно быстрее, чем при традиционной терапии: у 70,3% больных – к концу 2 недели, у 29,7% – к 6 неделе лечения.

При исследовании ферментов метаболизма организма (табл. 2) у пациентов со сквамозной формой болезни после традиционной терапии наблюдали достоверное снижение содержания гексозаминов ($p < 0,05$) и СРБ ($p < 0,001$), а уровень гексоз, сиаловых кислот и оксипролина был склонен к снижению по отношению к показателям до лечения ($p > 0,05$). У больных с данной формой микоза стоп после окончания терапии содержание гексуруновой кислоты в моче незначительно уменьшилось ($p > 0,05$), а количество оксипролина достоверно снизилось по сравнению с результатами до лечения ($p < 0,01$).

У пациентов со сквамозной формой болезни после окончания терапии разработанным методом, по сравнению с данными до лечения, в сыворотке крови показатели гексозаминов, гексоз, сиаловых кислот, оксипролина и СРБ достоверно снизились по отношению к показателям при поступлении ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно). У обследованной группы больных в моче содержание гексуруновой кислоты и оксипролина, по сравнению с данными до лечения, достоверно снизилось ($p < 0,001$). Отметим, что у больных данной клинической формой микоза стоп после окончания терапии комплексным методом показатель сиаловых кислот почти полностью восстановился (табл. 2).

У больных с интертригинозной формой микоза

стоп после традиционного метода лечения в сыворотке крови и в моче наблюдали тенденцию к снижению всех исследованных показателей ферментов метаболизма организма, хотя значения имели недостоверный характер ($p > 0,05$). У пациентов с данной формой микоза стоп после комплексного метода лечения в сыворотке крови показатели гексозаминов ($p < 0,02$), гексоз ($p < 0,01$), сиаловых кислот ($p < 0,001$), оксипролина ($p < 0,05$) и СРБ ($p < 0,001$) статистически достоверно снизились по сравнению с данными до лечения. Уровень гексуруновой кислоты ($p < 0,01$) и оксипролина ($p < 0,001$) в моче также достоверно снизился по сравнению с данными при поступлении, однако они не доходили до контрольных значений.

В группе больных с дисгидротической формой микоза стоп после традиционной терапии в сыворотке крови показатели гексозаминов, гексоз, сиаловых кислот, оксипролина и СРБ, а в моче – содержание гексуруновой кислоты и оксипролина были склонны к снижению по сравнению с данными до лечения ($p > 0,05$) (табл.2).

У больных с данной формой микоза стоп после комплексной терапии в сыворотке крови отмечали достоверное снижение уровня гексоз ($p < 0,05$), сиаловых кислот ($p < 0,05$), оксипролина ($p < 0,01$) и СРБ ($p < 0,02$), а содержание гексозаминов имело тенденцию к повышению ($P > 0,05$), количество гексуруновой кислоты ($p < 0,05$) и оксипролина ($p < 0,01$) в моче также было статистически достоверно снижено по сравнению с данными до лечения (табл.3).

Таким образом, включение в терапию больных микозами стоп пожилого и старческого возраста с микозом стоп препаратов «Витацинка» и «ФарГААС» повышает положительный терапевтический

Таблица 3.

Влияние проводимой терапии на показатели ферментов метаболизма организма у больных пожилого и старческого возраста с различными клиническими формами микоза стоп ($M \pm m$)

Показатели иммунитета	Клинические формы микоза стоп					
	Сквамозная		Интертригинозная		Дисгидротическая	
	Традиционная терапия, n=18	Комплексная терапия, n=21	Традиционная терапия, n=9	Комплексная терапия, n=10	Традиционная терапия, n=4	Комплексная терапия, n=4
Гексозамины в крови, ммоль/л	2,35 ± 0,13	2,32 ± 0,11	3,09 ± 0,21	3,32 ± 0,29	4,02 ± 0,73	4,87 ± 0,87
	1,95 ± 0,10*	1,73 ± 0,08*	2,70 ± 0,21	2,37 ± 0,16*	3,32 ± 0,56	2,82 ± 0,30
Гексозы в крови, ммоль/л	8,31 ± 0,23	8,47 ± 0,22	9,27 ± 0,39	9,36 ± 0,36	14,57 ± 1,96	14,37 ± 0,73
	7,84 ± 0,21	7,24 ± 0,19*	8,73 ± 0,38	7,94 ± 0,15*	13,85 ± 1,82	11,97 ± 0,40*
Сиаловая кислота в крови, ммоль/л	2,97 ± 0,09	3,05 ± 0,09	5,09 ± 0,21	5,13 ± 0,21	7,57 ± 0,87	8,37 ± 0,63
	2,65 ± 0,08	2,48 ± 0,05*	4,65 ± 0,20	3,96 ± 0,13*	7,20 ± 0,84	6,22 ± 0,20*
Оксипролин в крови, мкг/мл	15,98 ± 0,65	16,40 ± 0,53	16,37 ± 0,96	17,32 ± 0,76	21,77 ± 2,13	24,17 ± 0,83
	15,56 ± 0,64	14,06 ± 0,43*	15,71 ± 0,89	14,97 ± 0,54*	20,95 ± 2,03	18,90 ± 0,77*
СРБ в крови, мг/л	6,19 ± 0,10	6,16 ± 0,09	6,37 ± 0,25	6,60 ± 0,15	10,00 ± 0,88	8,90 ± 0,59
	5,64 ± 0,10*	4,66 ± 0,17*	5,90 ± 0,23	5,43 ± 0,14*	8,90 ± 0,87	6,02 ± 0,34*
Гексуруновые кислоты в моче, мг/л	4,45 ± 0,14	4,62 ± 0,11	4,70 ± 0,28	4,84 ± 0,20	6,50 ± 0,54	6,47 ± 0,35
	4,28 ± 0,10	3,64 ± 0,15*	4,35 ± 0,26	3,84 ± 0,13*	6,02 ± 0,53	5,20 ± 0,17*
Оксипролин в моче, мг/сутки	43,16 ± 0,84	43,57 ± 0,70	49,01 ± 1,31	48,61 ± 0,65	56,55 ± 1,16	55,65 ± 0,20
	39,33 ± 0,77*	35,55 ± 0,80*	45,54 ± 1,04	41,76 ± 0,45*	52,70 ± 0,90	48,95 ± 0,80*

Примечание: в числителе – данные до лечения; в знаменатели – данные после лечения; * – достоверность данных по отношению к показателям до лечения ($p < 0,05$)

эффект, способствует более раннему регрессу патологических элементов, полной микологической негитивации и оказывает более выраженный положи-

тельный эффект, что связано, по-видимому, с устранением дисбаланса метаболизма соединительной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новик Ф.К. Опыт применения орунгала для лечения онихомикоза стоп в позднем старческом возрасте //Вестник дерматол. и венерол. – 2001. – №6. – С. 51-53.
2. Бойко С.Ю. Возбудители онихомикозов: современные представления //Проблемы медицины. – 1999. – №5. – С. 45-47.
3. Кунакбаева Т.С. Распространенность микозов стоп у лиц среднего, пожилого и старческого возраста //Вопросы дерматологии и венерологии. – 2000. – №2. – С. 29-31.
4. Васенова В.Ю., Сергеев Ю.В., Бутов Ю.С. Некоторые аспекты эпидемиологии онихомикозов //Матер. II Всероссийского конгресса по медицинской микологии. – М., 2004. –Т.IV. – С. 23-24.
5. Потехаев Н.Н., Потехаев Н.С. Тербинафин в терапии дерматофитий у лиц пожилого и старческого возраста // Клиническая геронтология. – 2000. – №9-10. – С. 50-55.
6. Хлебникова А.Н. Комбинированные препараты в терапии дерматозов у лиц пожилого возраста //Клиническая дерматология и венерология. – 2007. – №2. – С. 79-83.
7. Rogers G., Gilchrist B. The senile epidermis: environmental influences on skin aging and cutaneous carcinogenesis //Br. J. Dermatol. – 1990. –Vol. 122, Suppl. 35. – P. 55-60.
8. Bernstein E., Chen Y., Kopp J. Long-term sun exposure alters the collagen of the papillary dermis //J. Amer. Acad. Dermatol. – 1996. –Vol.34. – P. 209-218.
9. Капкаев Р.А., Любан Б.А., Эшанхужаев Ш.Ш. Орунгал в терапии грибковых заболеваний. Пособие для врачей дерматовенерологов. – Ташкент, 2004. – 45 с.
10. Baran R. Differential diagnosis of rationale therapy nail Fungi Infection //Austral. J. Dermatol. – 1997. –Vol. 127. – №39. – P. 25-32.8.
11. De Doncker P., Gupta A.K. Itraconazole and terbinafine in perspective. From petri dish to patient //Postgrad. Med. – 1999. –Vol. Spec. – P. 6-11.
12. Gupta A.K., Lambert J. Update on the safety of itraconazole pulse therapy in onychomycosis and dermatomycosis //Eur. J. Dermat. – 2001. –Vol.11, №1. – P. 6-10.
13. Mercantini R. Onychomycosis in Rome, Italy //Мycopatologia. – 1996. –Vol. 136, №1. – P. 25-32.
14. Tlacuilo-Parra A. Ollier's disease with sella turcica involvement //J. Rheumatol. – 2003. –Vol. 30,№7. – P. 1491-1494.
15. Готтшиалк А. Содержание гексоз и гексозаминов. Гликопротеины. – М., 1969. – С. 228-331.
16. Линевиц А.И. Содержание сиаловых кислот. Успехи биологической химии. – М., 1962. – Т.4. – 193 с.
17. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. – М.: «Медицина». – 1987. – 368 с.
18. Асатиани В.С. Определение гексуроновой кислоты по Дише. Биохимический анализ. – М., 1954. – 226 с.
19. Шараев П.Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови //Лабор. дело. – 1981. – №5. – С. 283-285.

Поступила в редакцию журнала 26.06.2011

Рецензент: А.П. Котрехова



УДК 616.992

ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ МАКРОФАГАМИ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СО ШТАММАМИ *CRYPTOCOCCUS* *NEOFORMANS* РАЗНОЙ ВИРУЛЕНТНОСТИ IN VITRO

¹Филиппова Л.В. (науч.сотр.)*, ¹Фролова Е.В. (зав. лаб.), ¹Учеваткина А.Е. (ст. науч. сотр.), ¹Васильева Н.В. (директор), ²Киселева Е.П. (вед. науч. сотр.)

¹НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина ГОУ ДПО СПб МАПО; ²НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия

© Коллектив авторов, 2011

Изучали влияние 12 штаммов *Cryptococcus neoformans* разной вирулентности на способность перитонеальных макрофагов мышей к продукции широкого спектра цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17, IL-23, TNF- α и TGF- β). Установили, что все штаммы *C. neoformans*, вне зависимости от степени вирулентности, не стимулировали продукцию провоспалительных цитокинов IL-12 p70, IL-1 β , TNF- α макрофагами. Сильновирulentные штаммы *C. neoformans*, по сравнению со слабовирulentными, достоверно выше индуцировали выработку IL-13, IL-10 и IL-17. Предварительная стимуляция макрофагов липополисахаридом (ЛПС) и последующая инкубация с сильновирulentными штаммами *C. neoformans* приводили к разнонаправленным эффектам: отмечали существенное снижение продукции IL-13 и усиление выработки IL-10 и IL-17. Обработка макрофагов ламинарином подавляла способность сильновирulentных штаммов *C. neoformans* к индукции IL-13 макрофагами. Таким образом, можно предположить, что при взаимодействии со штаммами *C. neoformans*, макрофаги приобретают признаки альтернативно активированных макрофагов: отсутствует продукция провоспалительных цитокинов IL-12p70, TNF- α и оксида азота, имеют место умеренная выработка IL-10 и повышенный синтез IL-13, что, вероятно, способствует персистенции грибов внутри макрофагов.

Ключевые слова: вирулентность, *Cryptococcus neoformans*, макрофаги, цитокины

CYTOKINE PRODUCTION BY MACROPHAGES IN THE INTERACTION WITH DIFFERENT VIRULENCE CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS STRAINS IN VITRO

¹Filippova L.V. (scientific researcher),
¹Uchevatkina A.E. (senior scientific
researcher), ¹Frolova E.V. (head of the
laboratory), ¹Vasiljeva N.V. (director),
²Kiseleva E.P. (leading scientific researcher)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology, SEI
APE SPb MAPES; Research Institute of Experimental
Medicine, Saint Petersburg, Russia

© Collective of authors, 2011

The influence of 12 Cryptococcus neoformans strains of different virulence on the ability of mice peritoneal macrophages to a wide range of cytokines production (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17, IL-23, TNF- α and TGF- β) has been studied. It was established that all C. neoformans strains, regardless of virulence degree, did not stimulate production of proinflammatory cytokines IL-12p70, IL-1 β , TNF- α by macrophages. High virulent C. neoformans strains, as compared with low virulent strains, significantly higher induced the production of IL-13, IL-10 and IL-17. Pre-stimulation of macrophages by lipopolysaccharide (LPS) and subsequent incubation with high virulent C. neoformans strains resulted to different effects: there was a significant reduction of IL-13 production and of IL-10 and IL-17 increased production. Treatment of macrophages by laminarin inhibited the ability of high virulent C. neoformans strains to induce IL-13 by macrophages. Thus, we can assume that in interaction with C. neoformans strains the macrophages acquire the attributes of alternative activated macrophages: without production of proinflammatory cytokines IL-12p70, TNF- α and nitric oxide, and with the moderate production of IL-10 and enhance-weighted synthesis of IL-13, which probably contributes the fungal persistence inside macrophages.

Key words: *Cryptococcus neoformans*, cytokines, macrophages, virulence

* Контактное лицо: Филиппова Лариса Вячеславовна,
Тел.: (812) 303-51-40

ВВЕДЕНИЕ

Cryptococcus neoformans – оппортунистический патоген, являющийся одной из возможных причин развития криптококкоза у лиц с иммунодефицитными состояниями, особенно – у больных с синдромом приобретенного иммунодефицита при ВИЧ-инфекции. Преимущественно заболевание возникает после аспирации клеток патогена в легкие, в результате чего у иммунокомпетентных лиц возможно развитие бессимптомной бронхопневмонии, а у иммунокомпрометированных больных *C. neoformans* диссеминирует из легких, чаще всего приводя к развитию тяжелого менингоэнцефалита. Без применения антифунгальной терапии эта форма заболевания завершается 100% летальностью, но даже при своевременно назначенном лечении погибает от 10% до 25% больных [1]. Клиренс грибов из легких во многом зависит от способности альвеолярных макрофагов разрушать клетки дрожжей, тем самым предотвращая их распространение. Макрофаги поглощают криптококки и уничтожают их за счет активации различных факторов микробоцидности: кислородзависимых – за счет образования токсичных форм кислорода и выработки оксида азота и кислороднезависимых – в результате действия протеиназ и катионных белков [2]. При фагоцитозе грибов макрофаги активируются и продуцируют различные цитокины, определяющие течение инфекционного процесса. Полагают, что IL-12 и TNF- α усиливают активность Т-хелперов 1-го типа (Th1), ответственных за повышение активности макрофагов. Такие цитокины как IL-4 и IL-13 подавляют развитие адаптивного клеточного иммунного ответа, приводящего к неблагоприятному исходу криптококковой инфекции [3]. В соответствии с современными данными, эти цитокины также оказывают регулирующее влияние на индукцию макрофагов с различными фенотипами. Так, например, под влиянием IFN- γ и TNF- α индуцируются классически активированные макрофаги, обладающие высокой микробоцидной активностью и являющиеся центральными клетками врожденного иммунного ответа. В то же время альтернативно активированные макрофаги активируются при воздействии IL-4 и IL-13, и уничтожение патогенов не является их основной функцией [4].

Известно, что возможность инвазии тканей *C. neoformans* и характер течения криптококковой инфекции определяются не только степенью иммунодефицита макроорганизма, но и вирулентностью штамма [5]. Это обусловлено тем, что с течением времени микроорганизмы выработали ряд механизмов, позволяющих им влиять на характер развития адаптивного иммунного ответа макроорганизма. Однако данные о влиянии степени вирулентности *C. neoformans* на спектр продуцируемых макрофагами цитокинов достаточно противоречивы.

Цель работы – оценить спектр цитокинов, вырабатываемых перитонеальными макрофагами мышей

in vitro при взаимодействии со штаммами *C. neoformans* разной вирулентности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были 12 штаммов криптококков, полученные из Российской коллекции патогенных грибов (РКПГ) НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина: *Cryptococcus neoformans* РКПГ №№ 1106, 1178, 1165, 1090, 1216, 1262, 1272, 1257, 1271, 1276, 1175, 1164. Все штаммы криптококков представлены клиническими изолятами, выделенными от больных сотрудниками лаборатории микологического мониторинга и биологии грибов НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СПб МАПО Росздрава. Клетки *C. neoformans*, после выращивания в течение 72 часов на скошенном агаре Сабуро с 4% глюкозой при 37 °С, были отмыты в стерильном физиологическом растворе и доведены до концентрации $1 \cdot 10^6$ кл/мл в среде RPMI-1640 («РАА», Австрия). Для оценки жизнеспособности грибов использовали окраску трипановым синим: мертвые (нежизнеспособные) клетки окрашивались, живые – не поглощали красителя. Жизнеспособность грибов, использованных для эксперимента была равна 98%.

Макрофаги получали из перитонеальной полости мышей – самцов линии Balb/c, массой 18-20 г, в возрасте 8-12 недель. Концентрацию клеток довели до $1 \cdot 10^6$ кл/мл в среде RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и гентамицина. Макрофаги инкубировали в 24-луночных планшетах (Orange Scientific, Бельгия) 18 часов при 37 ° в CO₂-инкубаторе с 5% содержанием оксида углерода.

В эксперименте использовали интактные макрофаги и макрофаги, обработанные липополисахаридом (ЛПС) в дозе 1 мкг/мл (*E. coli* 055:B5, Sigma) или ламинарином в дозе 1 мг/мл (Sigma). Ламинарин имеет сходную химическую структуру с полисахаридами грибов и представляет собой $\beta(1,3)$ -гликан с $\beta(1-6)$ -связями – полисахарид, обнаруженный в бурых водорослях *Laminaria digitata*. Культуру *C. neoformans* добавляли к макрофагам в соотношении 10:1. Продукцию цитокинов макрофагами в супернатанте исследовали через 24 часа после совместной инкубации с клетками грибов. Жизнеспособность макрофагов после культивирования составляла 95%. Оценку IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17, IL-23, TNF- α и TGF- β проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов ELISA, R&D Systems.

Данные обрабатывали статистически при помощи пакета прикладных программ STATISTICA (версия 6.0) для Windows с использованием модуля «Анализ выживаемости», параметрического метода Стьюдента (t) с определением средней арифметической величины (M) и ошибки средней (m), корреляционного анализа (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как было показано ранее, при внутривенном инфицировании мышей разными штаммами *C. neoformans* сроки гибели экспериментальных животных варьировали в зависимости от вирулентности штаммов. Сильновирulentные штаммы *C. neoformans* (n=5) вызывали гибель 50% животных на 8-16 день, а слабоvirulentные (n=7) – на 27-65 день после заражения [6].

При оценке спектра вырабатываемых макрофагами цитокинов выявили, что изученные штаммы *C. neoformans* разной вирулентности не индуцировали макрофаги к выработке провоспалительных цитокинов IL-12, IL-1, TNF-α и регуляторных цитокинов – TGF-β, IL-23, то есть не было различий в уровнях цитокинов между интактными макрофагами и макрофагами, взаимодействующими с грибами (Рис.1).

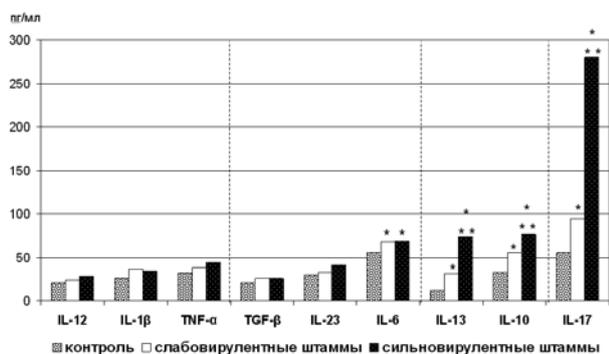


Рис. 1. Продукция цитокинов макрофагами при взаимодействии с *C. neoformans* разной вирулентности (p<0,05; * - контроль, ** - между штаммами)

При этом все штаммы *C. neoformans* были способны активировать макрофаги к выработке IL-6. Примечательно, что сильновирulentные штаммы достоверно выше, по сравнению со слабоvirulentными, индуцировали продукцию IL-13, IL-10 и IL-17 (Рис. 1). Мы установили корреляционную зависимость между вирулентностью грибов и их способностью к индукции IL-13, IL-10, IL-17 (IL-13, r = 0,63; IL-10, r = 0,62; IL-17 r = 0,82; p<0,05). В связи с этим, дальнейшие исследования были сосредоточены на изучении особенностей продукции именно этих цитокинов при взаимодействии криптококков с макрофагами.

В соответствии с современными представлениями, особенности активации защитных врожденных механизмов эффекторных клеток зависят от строения лигандов патогена. Распознавание патогенов обусловлено экспрессией паттерн-распознающих рецепторов (pattern recognition receptors, PRRs) на эффекторных клетках хозяина, которые связывают представленные на патогене соответствующие консервативные молекулярные структуры (pathogen-associated molecular pattern, PAMPs). Основными паттерн-распознающими рецепторами являются Толл-подобные рецепторы (TLR) и дектин-1. Но

единого мнения об их роли в активации синтеза различных цитокинов до настоящего времени нет. Известно, что ЛПС взаимодействует с TLR4 и является стимулятором макрофагов для продукции широкого спектра цитокинов. В ходе эксперимента было выявлено, что сильновирulentные штаммы грибов достоверно повышали продукцию IL-10 и IL-17 макрофагами, предварительно стимулированными ЛПС (по сравнению с контролем – концентрацией, продуцируемой макрофагами, стимулированным только ЛПС) (Рис.2). Ламинарин (β-гликан) при взаимодействии с макрофагами блокирует рецептор дектин-1 и приводит к снижению их фагоцитарной активности [7]. Нами установлено, что все штаммы грибов, несмотря на блокаду дектина-1, стимулировали макрофаги к продукции IL-10 (Рис. 2).

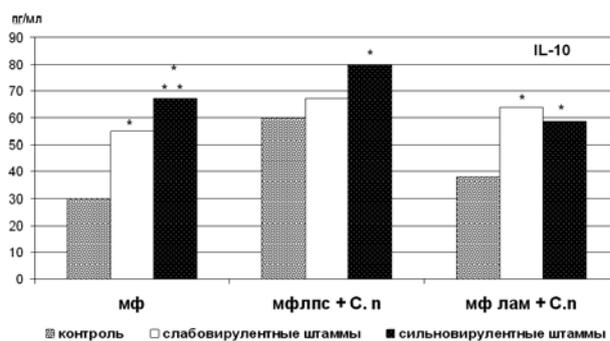


Рис. 2 Влияние *C. neoformans* разной вирулентности на продукцию IL-10 интактными макрофагами, культивируемыми с липополисахаридом или ламинарином (p<0,05; * - контроль; ** - между штаммами)

Примечателен факт, что сильновирulentные штаммы в 6 раз сильнее, по сравнению с контрольными значениями, стимулируют продукцию IL-13 и только в 2 раза – IL-10 и IL-17. Установлено, что сильновирulentные штаммы снижали выработку IL-13 макрофагами после инкубации с ЛПС и ламинарином. Это можно объяснить эффектом экранирования рецепторов, распознающих структуры капсулы и клеточной стенки гриба (Рис. 3).

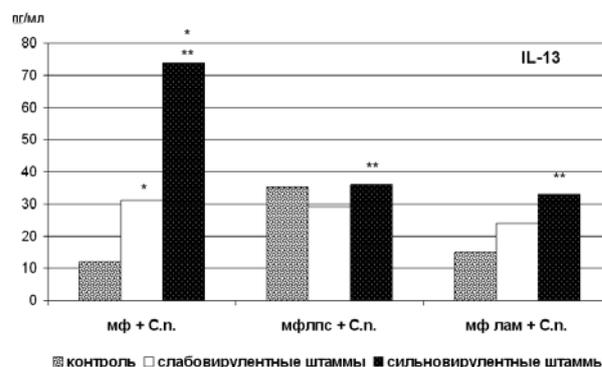


Рис. 3. Продукция IL-13: влияние липополисахарида и ламинарина (p<0,05; * - контроль, ** - между группами)

В ряде исследований оценена роль цитокинов в борьбе с криптококковой инфекцией. Известно, что способность инфекционных агентов активировать

макрофаги к продукции IL-12 играет ключевую роль в индукции иммунного ответа по Th1-типу, а баланс между Th1 и Th2 имеет решающее значение для исхода заболевания [3]. Однако в последнее время появились данные о том, что макрофаги обладают выраженной пластичностью, что позволяет им реагировать на различные медиаторы и изменять свой фенотип, в результате чего они приобретают различные эффекторные свойства. Способность внутриклеточных патогенов активировать макрофаги к продукции IL-12 и TNF- α приводит к выработке интерферона- γ (IFN- γ) Th1. IFN- γ и TNF- α являются основными цитокинами, активирующими факторы микробицидности макрофагов, приводящими к уничтожению внутриклеточных патогенов. Такие макрофаги считаются классически активированными и являются центральными клетками врожденного иммунного ответа. Классически активированные макрофаги продуцируют высокие уровни IL-12, TNF- α , оксида азота и низкие уровни IL-10. Кроме того, выделяют альтернативно активированные макрофаги, появляющиеся в организме под влиянием цитокинов Th2 типа, а именно IL-4 и IL-13. Их отличием является то, что они в меньшей степени продуцируют провоспалительные цитокины и реактивные промежуточные метаболиты азота, но характеризуются повышенной активностью аргиназы-1, умеренной продукцией IL-10, экспрессией IL-4R, маннозного рецептора (CD206) и протеина семейства хитиназы (YM1). Установлено, что аргиназа-1 успешно конкурирует с NO-синтазой за аргинин, субстрат который необходим для продукции реактивных промежуточных метаболитов азота [4]. Таким образом, основной функцией альтернативно активированных макрофагов, в отличие от классически активированных макрофагов, является не микробицидная активность, а участие в репарации тканей за счет продукции коллагена. Таким образом, было необходимо оценить способность криптококков индуцировать макрофаги к продукции различных цитокинов, которые могут влиять как на особенности экспрессии их фенотипа, так и на дальнейшее формирование адаптивного иммунного ответа.

Нами было установлено, что все штаммы криптококков, вне зависимости от их вирулентности, не стимулировали макрофаги к выработке провоспалительных цитокинов IL-12, IL-1 β и TNF- α . Также они не влияли на способность макрофагов, предварительно стимулированных ЛПС или обработанных ламинарином, к продукции названных медиаторов иммунного ответа. Эти данные не вполне совпадают с результатами, полученными другими исследователями. Так, было показано, что слабовирулентные, генетически модифицированные, акапсулярные мутанты криптококков стимулируют фагоциты к продукции провоспалительных цитокинов [8]. Эти различия можно объяснить тем, что все штаммы, используемые в нашей работе, являлись клиническими изолятами и, обладая разной степенью вирулентности,

вызывали развитие тяжелого менингоэнцефалита или диссеминированного криптококкоза. Таким образом, отсутствие способности криптококков индуцировать продукцию провоспалительных цитокинов IL-12 и TNF- α препятствует развитию эффективного клеточного иммунного ответа.

В экспериментальных исследованиях, проведенных Wozniak K.L. и др., было установлено, что индукция большого числа альтернативно активированных макрофагов, после заражения генетически модифицированных по IFN- γ мышей *C. neoformans*, может быть связана с высокой летальностью от криптококкоза [9]. Другими авторами была изучена роль IL-4 в чувствительности к заражению криптококками [10]. Значение противовоспалительных цитокинов IL-13 и IL-10 в патогенезе инфекции *C. neoformans*, в основном, изучалось *in vivo*. Значительно меньшее количество работ посвящено исследованию связи степени вирулентности грибов со способностью макрофагов к продукции данных цитокинов *in vitro*.

В нашем исследовании установлено, что сильно-вирулентные штаммы активнее стимулировали фагоциты к продукции IL-13 и IL-10 как по сравнению с интактными макрофагами, так и по сравнению с влиянием на макрофаги слабовирулентных штаммов грибов. Предварительная инкубация макрофагов с ЛПС или обработка их ламинарином и последующее добавление сильновирулентных штаммов криптококков приводили к разнонаправленным эффектам: существенное снижение продукции IL-13, вероятно, за счет экранирования TLR4 и дектина-1 и усиление продукции IL-10, возможно, опосредованное связыванием с TLR2. Сопоставляя эти данные с результатами, полученными другими авторами *in vivo*, можно предположить, что при взаимодействии всех штаммов криптококков с макрофагами они приобретают признаки альтернативно активированных макрофагов: отсутствует продукция провоспалительных цитокинов IL-12, TNF- α и оксида азота, имеет место умеренная выработка IL-10 и повышенный синтез IL-13. Причем синтез IL-13 и IL-10, вероятнее всего, обусловлен сигналами, поступающими от различных рецепторов макрофагов.

В последние годы появились данные о значении Th17 типа ответа в развитии криптококковой инфекции. Известно, что IL-17 является провоспалительным цитокином, который продуцирует отдельная субпопуляция CD4⁺ Т-хелперов, названная Th17 [11]. Значительно меньше известно о способности макрофагов к продукции IL-17 и о его роли в течении инфекционных процессов. Исследованиями, проведенными *in vitro*, было показано, что добавление IL-17 к культуре клеток способствовало снижению пролиферации дрожжей в макрофагах по сравнению с обработкой их IL-4 и IL-13. Da Silva с соавт. обнаружили, что хитин и другие компоненты клеточной стенки грибов стимулируют макрофаги к продукции IL-17 за счет активации TLR2 и MyD88 [12]. В наших исследованиях установлено, что совместная инкуба-

ция сильновирulentных штаммов грибов с макрофагами, активированными ЛПС, усиливала продукцию IL-17, вероятно, за счет связывания компонентов капсулы и стенки грибов с TLR2. Эти результаты очевидны при синергичной индукции IL-10 и IL-17 криптококками, отличной от индукции IL-13. Полученные данные согласуются с исследованиями, в которых подтверждено, что IL-17 не участвует в индукции классически активированных макрофагов и не влияет на баланс других цитокинов [10].

Считают, что такие цитокины, как TGF- β , IL-6 или IL-21 необходимы для индукции Th17 из наивных CD4+ Т-клеток мышей, а IL-23 поддерживает их пролиферацию [11]. Нами установлено, что все исследованные штаммы криптококков не стимулировали синтез цитокинов, необходимых для индукции Th17, таких как IL-23 и TGF- β . Следовательно, можно предположить, что макрофаги способны вырабатывать IL-17 в ответ на взаимодействие с гриба-

ми, не индуцируя дальнейшего развития иммунного ответа по Th17-типу.

Таким образом, сильновирulentные штаммы *C. neoformans* при взаимодействии с перитонеальными макрофагами индуцировали особый спектр цитокинов, причем степень вирulentности грибов находилась в прямой зависимости от интенсивности их продукции.

ВЫВОДЫ

1. Штаммы *C. neoformans*, независимо от их вирulentности, не стимулировали макрофаги к продукции провоспалительных цитокинов.

2. Сильновирulentные штаммы *C. neoformans*, по сравнению со слабевирulentными, достоверно выше индуцировали продукцию IL-13, IL-10 и IL-17.

3. Липополисахарид и ламинарин подавляли способность сильновирulentных штаммов *C. neoformans* к индукции IL-13 макрофагами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Li S.S., Mody C.H. Cryptococcus // Proc. Am. Thorac. Soc. – 2010. – Vol. 7, №3. – P.186-196.
2. Netea M., Van Der Meer J., Kullberg B. Recognition of fungal pathogen by Toll-like receptors// Immunology of fungal infection. – Springer, 2007. – P.259-272.
3. Koguchi Y, Kawakami K. Cryptococcal infection and Th1-Th2 cytokine balance// Int. Rev. Immunol. – 2002. – Vol.21. – P.423-438.
4. Mosser D. M., Zhang X. Activation of Murine Macrophages // Curr. Protoc. Immunol. – 2008. – Chapter 14:Unit 14.2.
5. Васильева Н.В. Факторы патогенности *Cryptococcus neoformans* и их роль в патогенезе криптококкоза: Дисс...докт. биол. наук. – СПб., 2005.
6. Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Фролова Е.В., Васильева Н.В., Киселева Е.П. Особенности взаимодействия макрофагов с разными по вирulentности штаммами *Cryptococcus neoformans* // Проблемы медицинской микологии. – 2010. – Т.12, №1. – С.38-41.
7. Dennehy K.M., Willment J.A., Williams D.L., Brown G.D. Reciprocal regulation of IL-23 and IL-12 following co-activation of Dectin-1 and TLR signaling pathways// Eur. J. Immunol. – 2009. – Vol. 39, №5. – P.1379-1386.
8. Lupo P, Chang Y. C., Kelsall B. L, Farber J. M. et al. The Presence of Capsule in *Cryptococcus neoformans* Influences the Gene Expression Profile in Dendritic Cells during Interaction with the Fungus // Infect. and Immun. –2008. – Vol. 76. – P.1581-1589.
9. Wozniak K.L., Ravi S, Macias S, Young M.L. Insights into the Mechanisms of Protective Immunity against Cryptococcus neoformans Infection Using a Mouse Model of Pulmonary Cryptococcosis // PLoS One. – 2009. – Vol 4. – e6854.
10. Hardison S.E., Wozniak K.L., Kolls J.K., Wormley FL Jr. Interleukin-17 is not required for classical macrophage activation in a pulmonary mouse model of *Cryptococcus neoformans* infection // Infect. Immun. – 2010 – Vol.78, №12. – P.5341-5351.
11. Korn T, Bettelli E., Oukka M., Kuchroo V. K. IL-17 and Th17 cells // Annu Rev. Immunol. – 2009. – Vol. 27. – P.485-517.
12. Da Silva C. A., Hartl D., Liu W., Lee C. G., Elias J. A. TLR-2 and IL-17A in chitin-induced macrophage activation and acute inflammation // J. Immunol. 2008. – Vol.181. – P.4279-4286.

Поступила в редакцию журнала 14.09.2011

Рецензент: А.В. Соколов



ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА МИКРОМИЦЕТЫ И БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ

**Свистова И.Д. (профессор кафедры),
Парамонов А.Ю. (аспирант кафедры)***

Кафедра биологии растений и микробиологии
Воронежского государственного педагогического
университета, Россия

© Свистова И.Д., Парамонов А.Ю., 2011

Лекарственные растения в специализированных хозяйствах растут значительно хуже, чем в естественных экосистемах. Исследовали влияние прижизненных корневых экссудатов 22 видов лекарственных растений на численность грибов и биологическую активность почвы. Численность почвенных микромицетов снижалась в 2-7 раз, а фитотоксикоз почвы возрастал в 1,5-5 раз. Изменения были наиболее выраженными в ризосфере растений семейств Губоцветные, Розовые, Астровые. Впервые обнаружили неспецифический фунгицидный эффект корневых экссудатов лекарственных растений через подщелачивание почвенного раствора. В почве под многолетними травами обнаружили нетипичные для природных экосистем токсигенные виды грибов, что представляет потенциальную угрозу накопления микотоксинов в лекарственном сырье. В статье обсуждаются возможные механизмы повышения почвенного фитотоксикоза.

Ключевые слова: корневые экссудаты, лекарственные растения, почвенные микромицеты, кислотность почвы, микотоксины, фитотоксичность почвы

INFLUENCE OF MEDICAL HERBS ON MICROMYCETES AND BIOLOGICAL SOIL ACTIVITY

**Svistova I.D. (professor of the chair),
Paramonov A.Ju. (postgraduate student)**

Chair of Plant Biology and Microbiology, Voronezh State
Pedagogical University, Russia

© Svistova I.D., Paramonov A.Ju., 2011

Medical herbs in special farms grow worse than in natural ecosystems. Influence in vivo rhizoexudates of 22 species of medicinal herbs on soil fungi quantity and biological activity has been investigated. Quantity of soil micromycetes reduced in 2-7 times, soil phytotoxicosis increased in 1,5-5 times. Changes were expressed pronouncedly in rizosphere of plants belong to Labiatae, Rosaceae and Asteraceae families. Non-specific fungicide effect of rhizoexudates of medicinal herbs through alcalisation of soil solution was found the first time. In soil upon perennial medical herbs were obtained nontypic for natural ecosystems toxic species of fungi that present a threat to accumulation of mycotoxins in plant raw material. Possible mechanisms of soil phytotoxicosis increase have been discussed.

Key words: medical herbs, mycotoxines, root exudates, soil acidity, soil micromycetes, soil phytotoxicity

* Контактное лицо: Парамонов Андрей Юрьевич
Тел.: 8-908-148-74-87

При выращивании лекарственного растительного сырья в специализированных хозяйствах сталкиваются с проблемой быстрого снижения продуктивности растений. Всхожесть семян, темпы роста и развития растений хуже, чем в природных экосистемах, они не могут долго выращиваться на одном месте.

Актуальной проблемой экологии является выяснение механизмов регуляции функционирования системы «почва – микробное сообщество – растения». Обычно изучают влияние одних растений на другие (аллелопатия) [1] или развитие фитотоксикоза почвы под растениями [2], данных же о влиянии растений на микробное сообщество почвы крайне мало.

Известно, что объем прижизненных растительных выделений в почву (ризоэкссудатов) достигает 30-40% от общего объема продуктов фотосинтеза [3]. Состав корневых экссудатов значительно варьирует у растений разных семейств. Так, у злаков преобладают сахара и органические кислоты, у бобовых – аминокислоты и амиды [4,5]. Известны разрозненные работы по влиянию растений на состав и структуру почвенного микробного сообщества [6, 7, 8], однако анализа направленности и степени выраженности эффекта растений разных семейств в доступной нам литературе мы не обнаружили.

Лекарственные растения накапливают биологически-активные вещества: гормоны, алкалоиды, гликозиды, эфирные масла, дубильные вещества, фенолы, флавоноиды и др., которые обеспечивают их терапевтическое действие [9]. Растения семейства Губоцветные (тимьян, шалфей, иссоп, пустырник) накапливают эфирные масла (тимол, ментол, карвакрол, линолоол, гераниол, сальвин), гликозиды (иссопин), оказывающие выраженный антибиотический и фунгицидный эффект. Растения семейства Розовые (кровохлебка, лапчатка), синтезирующие гликозиды (торментол), сапонин и дубильные вещества (катехин), оказывают антисептическое действие. Флавоноиды бадана (арбутин, изокумарин) и алкалоиды окопника (лазиокарпин, циноглоссин) обеспечивают противовоспалительные свойства этих растений [9].

По нашему предположению, в процессе прижизненной корневой экссудации растениями, эти соединения активно выделяются в почву и могут также менять численность и состав микробного сообщества, в том числе комплекса почвенных микромицетов. В научной литературе имеются отдельные сообщения о выявлении в почве под монокультурами растений токсигенных и опасных для человека видов грибов [4, 6, 7, 10].

Цель работы – изучение влияния лекарственных растений разных семейств на численность и состав микромицетов и фитотоксическую активность почвы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Таблица 1

Численность микромицетов, фитотоксическая активность и кислотность почвы под лекарственными растениями. Представлены минимальные-максимальные значения показателей для разных видов семейства

Семейства растений	Численность микромицетов, 10 ³ /г почвы	Ингибирование, %		рН _{водн}	Δ рН
		всхожести семян	роста корня проростка		
- (пар)	58-61	0-3,5	8,3-10,2	6,26-6,45	-
Разнотравье (целина)	118-137	1,5-2,7	4,3-5,0	6,05-6,18	-(0,20-0,33)
Губоцветные	3-30	3,3-6,4	13,7-25,6	6,75-7,23	0,35-0,97
Розовые	14-25	2,1-5,4	15,4-32,0	6,59-6,98	0,31-0,72
Астровые	6-40	1,1-7,6	13,0-30,2	6,79-7,09	0,38-0,76
Норичниковые	19-31	2,1-3,3	13,4-23,8	6,75-7,00	0,47-0,74
Валериановые	23-27	1,1-1,2	9,4-16,5	7,28-7,39	1,00-1,13
Бурчанниковые	11-20	3,2-4,3	21,4-25,3	7,20-7,22	0,94-0,97
Рутовые	11-31	2,1-2,2	14,3-15,7	6,95-7,15	0,67-0,89
Камнеломковые	9-27	6,4-7,6	21,9-22,6	6,68-6,89	0,40-0,63
Зонтичные	15-30	0-3,2	10,4-14,4	6,57-6,60	0,29-0,34
Барбарисовые	20-31	2,2-3,2	17,5-24,7	6,69-6,77	0,32-0,43
Гречишные	11-31	1,0-3,2	18,3-20,1	6,68-6,85	0,42-0,57

Объектом исследования был комплекс микромицетов чернозема выщелоченного под различными фитоценозами. Пробы почвы отбирали из слоя 0-20 см на стационарном микрополевым опыте по лекарственным растениям третьего года выращивания Воронежского агроуниверситета. Исследовали почву под растениями 22 видов 11 семейств: Губоцветные (мята перечная, душица обыкновенная, иссоп лекарственный, тимьян ползучий, шалфей лекарственный, шлемник обыкновенный, мелисса лекарственная, пустырник пятилопастной, лаванда узколистная), Розовые (лапчатка белая, кровохлебка лекарственная), Астровые (эстрагон, эхинацея пурпурная), Бурчанниковые (окопник лекарственный), Зонтичные (любисток лекарственный), Гречишные (ревень тангутский), Валериановые (валериана лекарственная), Рутовые (рута душистая), Норичниковые (наперстянка лекарственная), Камнеломковые (бадан толстолистный), Барбарисовые (подофил щитовидный). Контролями служили целинный чернозем под злаково-разнотравной ассоциацией и почва без растений (пар).

Численность микромицетов выявляли методом посева на агаризованную среду Чапека (рН 4,5) [11]. Видовую идентификацию опасных для здоровья людей микромицетов проводили по определителям [10, 12]. Фитотоксичность почвы определяли методом биотестов (тест-растение редис) и выражали в процентах ингибирования всхожести семян и роста корня проростка на почвенных пластинах по сравнению с выращиванием на увлажненной фильтровальной бумаге [11]. Кислотность почвы исследовали потенциометрически в водной вытяжке [13].

Представлены данные за 3 вегетационных сезона с контрастными гидротермическими условиями (2009-2011 гг.). Почвенные пробы отбирали в фенофазу бутонизации – цветения (II декада июня), когда корневая экссудация растений наибольшая.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В целинном черноземе численность микромицетов была в 2-2,5 раза выше, чем в парующей почве (табл. 1), что подтверждает стимулирующий эффект корневых выделений природных зрелых злаково-разнотравной ассоциаций, характеризующихся высоким видовым разнообразием растений.

Все лекарственные растения в монокультуре в той или иной степени подавляли развитие грибов, по сравнению с чистым паром, причем ингибирование было наиболее выражено в условиях сухого и жаркого сезона. Для исследованных семейств обнаружили снижение численности почвенных микромицетов в 2-7 раз, наиболее сильно – под Губоцветными, Розовыми и Астровыми (например, под эхинацеей пурпурной содержание грибных зачатков снижалась до 10 раз). Значительный разброс между представителями одного семейства растений отмечали для Губоцветных (наименьший эффект выявили у душицы обыкновенной, наибольший – у тимьяна ползучего и иссопа лекарственного, которые снижали численность грибов в почве до 20 раз).

Выращивание лекарственных растений в монокультуре, в отличие от природных растительных ассоциаций, приводило к росту фитотоксичности почвы. Наиболее информативным показателем фитотоксических свойств почвы с помощью метода биотеста было ингибирование роста корня проростка тест-растения. Фитотоксикоз почвы под лекарственными растениями возрастал в 1,5-5 раз, наиболее сильно – под растениями семейств Губоцветные, Розовые, Астровые (для кровохлебки лекарственной этот показатель составлял 32 %, для шлемника обыкновенного – 26 %, а для эхинацеи пурпурной – 25 %, что соответствует среднему уровню фитотоксикоза почвы) [6, 7, 14].

Для объяснения парадоксальной обратной зави-

Нетипичные для целинного чернозема выщелоченного виды токсигенных микромицетов, выделенные под многолетними лекарственными растениями

Виды грибов	Микотоксины
<i>Aspergillus ochraceus</i>	охратоксины, патулин, стеригматоцистин, пеницилловая к-та
<i>A. clavatus</i>	триптоквивалин, цитохалазин, патулин, койевая к-та
<i>A. ustus</i>	устовая к-та, аустдиоил, стеригматоцистин
<i>Penicillium notatum</i>	афлатоксины, охратоксины, цитринин
<i>P. funiculosum</i>	фуниколозин, рубротоксин В
<i>P. purpurgenum</i>	рубратоксины А и В, патулин, стеригматоцистин
<i>P. velutinum</i>	веррукулоген, ругулозин, секалоновая кислота
<i>P. viridicatum</i>	охратоксины, цитринин, патулин, микрофеноловая к-та
<i>Talaromyces flavus</i>	щавелевая к-та, фумаровая к-та, лютеоскирин
<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. nivale</i>	трихотеценовые токсины, зеараленон, монилиформины
<i>Alternaria alternata</i>	альтернариол и его производные

симости показателей биологической активности почвы (снижение численности грибов и рост фитотоксичности) нами были выдвинуты несколько гипотез: прямое влияние растительных корневых экссудатов, изменение свойств почвы или нарушение состава и структуры комплекса грибов.

В таблице 1 представлены данные по изменению почвенной кислотности по вариантам опыта. Почва без растений имела слабокислую реакцию, что характерно для чернозема выщелоченного. В целинном варианте со злаково-разнотравной растительной ассоциацией наблюдали небольшое подкисление почвы на 0,20-0,33 ед. рН, что совпадает с данными других авторов о кислотном характере корневых выделений растений семейства Злаковые [4, 5]. Как известно, оптимум роста большинства видов грибов лежит в слабокислом диапазоне [7], так что в природных экосистемах лесостепи зрелые фитоценозы не препятствуют развитию почвенных микромицетов.

Нами впервые обнаружено, что монокультуры исследованных лекарственных растений за 3 года вызвали подщелачивание почвы в разной степени. По нашему мнению, этот эффект определяется тем, что в составе их корневых экссудатов преобладают биологически-активные вещества фенольной природы. В водном растворе они диссоциируют с образованием фенильных анионов, которые в результате реакций анионного обмена «выдавливают» из почвенно-поглощающего комплекса гидроксильные ионы ОН⁻ [10, 15].

В почве под растениями семейств Камнеломковые, Зонтичные, Барбарисовые, Гречишные повышение рН раствора не превышало 0,3-0,6 ед.; под разными видами семейств Губоцветные, Розовые и Астровые рост рН варьировал от 0,3 до 1,0 ед. рН; наибольшее подщелачивание почвенного раствора наблюдались под растениями семейств Валериановые, Бурачниковые и Рутовые (до 0,9-1,1 ед. рН). Столь значительное возрастание рН почвы может ингибировать рост и развитие грибов.

В то же время обращает на себя внимание тот факт, что из почвы под разными видами лекарственных растений с высокой частотой выделяли не только типичные для целинного чернозема выщелоченные виды грибов [16], но и нехарактерные для данной почвы виды: *A. ustus* (Bain) Thom. et Church., *A. clavatus* Desmaz., *A. ochraceus* Wilhelm, *Penicillium funiculosum* Thom., *P. viridicatum* Westling, *P. purpurogenum* Fler et Stoll., *P. velutinum* Beyma, *P. notatum* West., *Gliocladium roseum* (Lk) Bain, *Fusarium nivale* (Fr.) Ces., *F. oxysporum* (Schlecht) Snyder et Hans, *Alternaria alternata* Ness., *Talaromyces flavus* (Klocker) Stolk et Samson (табл. 2).

Эти виды грибов известны как продуценты микотоксинов различной химической природы [6, 7, 12, 17]. Возможное поступление микотоксинов из почвы представляет потенциальную угрозу накопления микотоксинов в лекарственном сырье, выращиваемом в многолетней культуре на одном поле.

Таким образом, в почве под лекарственными растениями численность микромицетов снижается. Впервые обнаружен неспецифический фунгицидный эффект корневых экссудатов лекарственных растений через подщелачивание почвенного раствора, однако корреляции между степенью изменения рН и снижением численности микромицетов не наблюдали. Кроме того, не ясна причина роста фитотоксической активности почвы при угнетении развития грибов. Для ответа на вопрос, вызваны ли снижение численности грибов и рост фитотоксикоза почвы специфическими вторичными метаболитами растений или связаны с нарушением микробного сообщества почвы, необходимы дополнительные исследования. Обнаружение в почве под многолетними травами нетипичных для природных экосистем токсигенных видов грибов представляет потенциальную угрозу накопления микотоксинов в лекарственном сырье. Следовательно, выращивать лекарственные растения на одном месте более 3-х лет не рекомендуется, необходимо разрабатывать специальные севообороты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гродзинский А.М. Аллелопатия растений и почвоутомление. – Киев: Наукова думка, 1991. – 327 с.
2. Лобков В.Т. Почвоутомление при выращивании полевых культур. – М.: Колос, 1994. – 112 с.
3. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – 134 с.
4. Красильников Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. – М.: Изд-во АН СССР, 1958. – 463 с.
5. Иванов В.Л. Растительные выделения и их значение в жизни фитоценозов. – М.: Наука, 1973. – 295 с.
6. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. – М.: Академия, 2004. – 248 с.
7. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. – М.: Изд-во МГУ, 1988. – 220 с.
8. Christensen M.A. View of fungal ecology // Mycologia. – 1989. – Vol. 81, №1. – P.1-19.
9. Атлас лекарственных растений СССР – М.: Гос. изд-во медич. лит-ры, 1962. – 703 с.
10. Пинский Д.Л. Ионнообменные процессы в почвах. – Пушкино: ОНТИ РАН, 1997. – 166 с.
11. Методы экспериментальной микологии. /Под ред. В.И. Билай – Киев: Наукова думка, 1982. – 550 с.
12. Билай В.И., Пидопличко Н.М. Токсикообразующие микроскопические грибы и вызываемые ими заболевания человека и животных. – Киев: Наукова думка, 1970. – 299 с.
13. Методы почвенной микробиологии и биохимии /Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 302 с.
14. Doleman F. Resistance of soil microbial communities in soil. – London-N.Y.: Acad. Press, 1986. – 369 p.
15. Paul E.A., Clark F.E. Soil microbiology and biochemistry – London: Academic Pr., 1996. – 340 p.
16. Свистова И.Д. Биодинамика микробного сообщества чернозема в антропогенных экосистемах лесостепи. Дисс. ... д-ра биол. наук – Петрозаводск: ПетрГУ, 2005. – 485 с.
17. Тутельян В.А., Кравченко Л.В. Микотоксины (медицинские и биологические аспекты). – М.: Медицина, 1985. – 320 с.

Поступила в редакцию журнала 03.08.2011

Рецензент: С.М. Игнатьева



ИНДИКАТОРНЫЕ ВИДЫ МИКРОМИЦЕТОВ В ПОЧВЕ ПОД ЛЕКАРСТВЕННЫМИ РАСТЕНИЯМИ

**Свистова И.Д. (профессор кафедры),
Парамонов А.Ю. (аспирант кафедры)***

Кафедра биологии растений и микробиологии
Воронежского государственного педагогического
университета, Россия

© Свистова И.Д., Парамонов А.Ю., 2011

Обнаружили резкое снижение видового разнообразия комплекса микромицетов в почве под лекарственными растениями. В 1,5-2 раза возросла доля токсигенных видов грибов, а их суммарная плотность – в 7-10 раз. Среди индикаторных видов, частота встречаемости и плотность которых увеличивается, большинство аборигенных и заносных видов известны как продуценты микотоксинов широкого спектра действия. Предложена модель «метаболической» регуляции системы «почва – микробное сообщество – растения», которая объясняет фунгицидный эффект и рост почвенного фитотоксикоза под лекарственными растениями.

Ключевые слова: индикаторные виды грибов, лекарственные растения, почвенные микромицеты, типичные виды, токсигенные виды

SOIL INDICATOR MICROMYCETES SPECIES UNDER MEDICAL HERBS

**Svistova I.D. (professor of the chair),
Paramonov A.Ju. (postgraduate student)**

Department of Plant Biology and Microbiology,
Voronezh State Pedagogical University, Russia

© Svistova I.D., Paramonov A.Ju., 2011

Considerable reduction of species diversity soil micromycetes complex under medicinal herbs has been discovered. Part of toxic fungi species increased in 1,5-2 times, their summary density – in 7-10 times. Most of aborigines and leaving species among indicator species which increase frequency of meeting and density are known as producers of high spectrum mycotoxins. A model of «metabolic» regulation of «soil – microbial community – plants», which explains the growth and fungicidal effect of soil phytotoxicosis under medicinal herbs has been proposed.

Key words: indicatorian fungal species, medical herbs, soil micromycetes, typical species, toxic species

ВВЕДЕНИЕ

При обсуждении регуляции функционирования системы «почва – микробное сообщество – растения» обычно рассматривают трофические связи. Состав прижизненных корневых экссудатов и ризодепозитов (слизистые клетки корневого чехлика и корневых волосков), а также отмершей мортмассы значительно варьирует у растений разных семейств и определяет состав и структуру почвенного микробного сообщества [1].

Другим механизмом взаимодействия компонентов системы являются так называемые «метаболические» связи, а точнее – регуляция с помощью биологически-активных вторичных метаболитов [2]. Данных о влиянии вторичных метаболитов растений на микробное сообщество почвы крайне мало.

Лекарственные растения широко используют в медицине благодаря активному синтезу биологически-активных веществ (гликозидов, алкалоидов, эфирных масел, дубильных веществ, фенолов, флавоноидов, стероидов и др.). Так, растения семейства Губоцветные накапливают эфирные масла (тимол, ментол, карвакрол, стахидрин, иссопин и др.). Растения семейства Розовые синтезируют флавоноиды (сапонин), дубильные вещества и органические кислоты (галловую, яблочную, аскорбиновую). Растения семейства Астровые синтезируют тритерпеновые гликозиды и органические кислоты (салициловую, аскорбиновую). Для Зонтичных характерны флавоноиды (кверцетин), эфирные масла (дилланиол, кемпферол, терпинин, бергаптен и др.). Многие из этих веществ проявляют бактерицидное и фунгицидное действия.

Ранее нами установлено, что численность микромицетов в почве под лекарственными растениями заметно снижается, причем это не объясняется только неспецифическим эффектом подщелачивания почвы [3]. Возможно, прижизненная экссудация вторичных метаболитов может определять специфические эффекты растений разных семейств на численность почвенных микромицетов и изменять состав и структуру их комплекса. Остается также неясной причина роста фитотоксической активности почвы при угнетении развития грибов: определяется ли почвенный фитотоксикоз только аллелопатическими взаимоотношениями растений или он связан с «обратным» воздействием микробного сообщества, в частности микромицетов, на рост и развитие растений.

Цель работы – изучение влияния лекарственных растений разных семейств на видовую структуру комплекса почвенных микромицетов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования был комплекс микромицетов чернозема выщелоченного под лекарственными растениями разных семейств. Варианты и условия эксперимента подробно описаны в работе [3].

Микромицеты выделяли из почвы на среде Ча-

* Контактное лицо: Парамонов Андрей Юрьевич
Тел.: 8-908-148-74-87

пека рН 4,5, изоляты идентифицировали до рода по определителям (Милько А.А., 1974; Кириленко Т.С., 1977; Билай В.И., 1988), до вида – на кафедре микологии и альгологии биологического факультета МГУ по определителям (Ellis M.B., 1980; Pitt J., 1979; Raper K.B., 1949, 1951). Токсигенными считали виды согласно определителям (Билай В.И., 1990; Кашкин П.Н., 1979) и собственным исследованиям [4-6].

Видовую структуру комплекса микромицетов определяли на основе критериев пространственной и временной частоты встречаемости и плотности вида (Мирчинк Т.Г., 1988).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из почвы целинного участка под зрелой злаково-разнотравной растительной ассоциацией нами было выделено 83 вида грибов, из них в комплекс типичных для чернозема входят 20 видов (табл. 1). В ранге доминантов оказались виды *Cephalosporium acremonium* Corda, *Acremonium alternatum* Lk. ex Fries, *Penicillium tardum* Thom., *P. expansum* Link., *P. simplicissimus* (Oud.) Thom, *Paecilomyces lilacinum* Thom., *Fusarium solani* (Mart) Appl. Et Wr., *Trichoderma koningii* Oudem. В ранге часто встречающихся видов выделяли *Aspergillus candidum* Link, *A. ustus* (Bain) Thom. et Church., *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries, *Sporotrichum piluliferum* Link et Fries, *Humicola grisea* Traaen, *Chaetomium piluliferum* Daniels, *Gliocladium virens* Miller, Giddens et Foster, *Alternaria alternata* Ness.

Таблица 1.

Характеристика видовой структуры комплекса микромицетов чернозема под разными фитоценозами

Семейства растений	Количество типичных видов	Из них токсигенных (в %)	Плотность токсигенных видов, %
- (пар)	8	2 (25 %)	14
Разнотравье (целина)	20	8 (44 %)	9
Губоцветные	15	12 (80 %)	86
Розовые	12	8 (67 %)	85
Астровые	11	8 (73 %)	65
Норичниковые	10	7 (70 %)	78
Валериановые	7	4 (57 %)	82
Бурачниковые	9	6 (67 %)	74
Рутовые	7	5 (71 %)	91
Камнеломковые	6	4 (67 %)	53
Зонтичные	7	6 (86 %)	90
Барбарисовые	6	5 (83 %)	88
Гречишные	5	3 (60 %)	58

В парующей почве без растений комплекс микромицетов чернозема обеднялся, количество типичных видов сократилось до 8, что указывало на негативную стимулирующую роль растительных корневых экссудатов и ризодепозитов. Однако в почве под монокультурами лекарственных растений видовое разнообразие комплекса микромицетов оказалось тоже значительно ниже, чем под разнотравьем – от 15-10 до 7-6 видов. Наименьшее количество типичных видов грибов отмечали в почве под растениями се-

мейств Барбарисовые, Камнеломковые и Гречишные.

Такое нарушение структуры сообщества называется «концентрация доминирования» видов; снижение видового разнообразия считается показателем низкой устойчивости микробного сообщества таких почв [2]. Это характерно для почв, загрязненных поллютантами, или при внесении в почву высоких доз минеральных удобрений [1].

Видовой состав комплекса типичных видов микромицетов в почве под лекарственными растениями также значительно изменялся. Одни виды снижали частоту встречаемости, переходя в ранг случайных, или совсем не выделялись, другие повышали частоту встречаемости и плотность, переходя в ранг доминантов. В почве под некоторыми растениями в комплексе типичных микромицетов обнаружили виды, которые в целинном черноземе были случайными или совсем не выделялись.

Степень нарушения видовой состава грибов в значительной степени определял тип фитоценоза. Под одними растениями реакция комплекса почвенных микромицетов соответствовала адаптивной зоне «стресса» (перегруппировка типичных видов по частоте и плотности) [1]. Так, в почве под растениями семейств Валериановые, Гречишные, Камнеломковые возрастала плотность *Aspergillus ustus* и *Alternaria alternata*, а в ранге часто встречающихся видов выделяли *Aspergillus wentii* Wehmer, *A. clavatus* Desmaz., *Penicillium funiculosum* Thom., *P. notatum* West. В почве под растениями семейств Норичниковые, Барбарисовые, Рутовые, Зонтичные указанные виды грибов, а также *Fusarium solani* переходили в ранг доминантов, а в ранге часто встречающихся выделяли виды *A. alliaceus* Thom. et Church., *A. terreus* Thom., *F. oxysporum* (Schlecht) Snyd et Hans, *Stachybotrys chartarum* (Ehrenb. ex Link) Hugnes, *Talaromyces flavus* (Klocker) Stolk et Samson, *Rhizoctonia solani* Kuhn., которые в контроле были случайными.

В почве под растениями семейств Губоцветные и Розовые в комплекс типичных видов микромицетов входили виды *P. purpurogenum* Fler et Stoll., *P. viridicatum* Westling, *P. velutinum* Beuma, *Gliocladium roseum* Beuma, *F. nivale* (Fr.) Ces., которые в целинном черноземе и в почве без растений не выделялись. Такая реакция комплекса почвенных микромицетов соответствовала адаптивной зоне «резистентности» (смена типичных видов при общем снижении видового разнообразия) и свидетельствовала о более сильном воздействии внешнего фактора [1].

Все выделенные типичные виды грибов, по их реакции на корневые экссудаты лекарственных растений, мы разделили на несколько групп (табл. 2).

Таблица 2.

Реакция комплекса микромицетов чернозема на выращивание лекарственных растений

Виды грибов	Группы видов
<i>Acremonium alternatum</i> , <i>Cephalosporium acremonium</i> , <i>Aspergillus candidum</i> , <i>Paecilomyces lilacinum</i> , <i>Penicillium simplicissimum</i> , <i>Humicola grisea</i> *, <i>Chaetomium piluliferum</i> , <i>Gliocladium virens</i>	Чувствительные
<i>P. tardum</i> *, <i>Fusarium solani</i> *, <i>Alternaria alternata</i> *	Устойчивые
<i>A. niger</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Mucor hiemalis</i> , <i>A. ochraceus</i> *, <i>A. ustus</i> *, <i>A. wentii</i> *, <i>A. clavatus</i> *, <i>A. alliaceus</i> *, <i>P. notatum</i> *, <i>P. funiculosum</i> *, <i>F. oxysporum</i> *, <i>Talaromyces flavus</i> *	Индикаторные
<i>P. purpurogenum</i> *, <i>P. viridicatum</i> *, <i>P. velutinum</i> *, <i>F. nivale</i> *, <i>Rhizoctonia solani</i> *, <i>Gliocladium roseum</i> *	Не характерные для контроля

* - токсигенные виды микромицетов.

Виды, снижающие частоту встречаемости или исчезающие из комплекса типичных для целинного чернозема видов, отнесли в группу чувствительных. Виды, сохраняющие частоту встречаемости, считали устойчивыми к корневым экссудатам лекарственных растений. Виды, частота встречаемости которых под определенными растениями заметно возрастала, можно считать индикаторными для этих растений.

Мы выявили общую экологическую направленность сукцессии микромицетов, вызванную монокультурой лекарственных растений. В целинном и парующем черноземе доля видов грибов, которые, по литературным и нашим более ранним исследованиям, известны как токсигенные [4-6], была относительно небольшой (44 и 25% соответственно), а их плотность – всего 14 и 9%. В почве под монокультурами разных видов лекарственных растений в фазе бутонизации – цветения, когда корневая экссудация растений максимальна, из комплекса типичных видов исчезали нетоксигенные виды грибов, в то время как частота встречаемости токсигенных видов микромицетов возрастала в 1,5-2 раза, а их плотность – в 7-10 раз (табл. 1).

В группу чувствительных видов входят нетоксигенные виды грибов, в группу устойчивых и ряд индикаторных видов – микромицеты, способные к синтезу микотоксинов узкого спектра действия, а

некоторые индикаторные и все нехарактерные для контроля виды грибов известны как продуценты микотоксинов широкого спектра действия с антибиотической, фунгицидной, фито- и зоотоксической активностью [4-6].

По-видимому, прижизненная корневая экссудация биологически-активных вторичных метаболитов растениями разных семейств оказывает фунгицидный эффект, снижая численность почвенных микромицетов. В этих условиях получают преимущества виды грибов, которые синтезируют микотоксины и подавляют развитие конкурентов. В результате меняются состав и структура комплекса почвенных микромицетов, начинают доминировать аборигенные или заносные токсигенные виды с широким спектром действия микотоксинов. Специфичность и степень такой «метаболической регуляции» почвенного микробного сообщества наиболее выражена у растений семейств Губоцветные и Розовые и соответствуют адаптивной зоне «резистентности», что характерно также для реакции на высокие дозы поллютантов [1].

Известно, что почва в этом диапазоне загрязнения обладает высокой общей токсичностью не только по отношению к микроорганизмам, но также и к высшим организмам (растениям, животным). По нашим данным, накапливающиеся виды токсигенных почвенных грибов проявляют значительную фитотоксическую активность [4-6]. Следовательно, выявленное в наших опытах развитие почвенного фитотоксикоза во многом определяется микробным сообществом. Биологическая роль этого явления не ясна, возможно, почвенная фитотоксическая активность служит отрицательной обратной связью, в монокультуре угнетается развитие лекарственных растений.

Таким образом, на примере лекарственных растений и почвенных микромицетов нами показано, что в регуляции системы «почва – микробное сообщество – растения» важную роль играют как прямые, так и обратные «метаболические связи».

ЛИТЕРАТУРА

1. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. – М.: Академия, 2004. – 248 с.
2. Шилов И.А. Экология. – М.: Высшая школа, 1998. – 512 с.
3. Свистова И.Д., Парамонов А.Ю. Влияние лекарственных растений на микромицеты и биологическую активность почвы // Проблемы медицинской микологии, 2011. – Т. 13, №3. – С. 50-52.
4. Сенчакова Т.Ю., Свистова И.Д. Спектр биологической активности микромицетов чернозема // Проблемы медицинской микологии. – 2009. – № 1. – С. 30-34.
5. Свистова И.Д., Щербаков А.П., Фролова Л.О. Фитотоксическая активность сапротрофных микромицетов чернозема: специфичность, сорбция и стабильность фитотоксинов в почве // Прикладная биохимия и микробиология. – 2003. – № 4. – С. 433-437.
6. Свистова И.Д., Щербаков А.П., Фролова Л.О. Токсины микромицетов чернозема: спектр антибиотического действия и роль в формировании микробного сообщества // Почвоведение. – 2004. – № 10. – С. 1220-1227.

Поступила в редакцию журнала 03.08.11

Рецензент: С.М. Игнатьева



ОСНОВНЫЕ ИТОГИ ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ (XIV КАШКИНСКИЕ ЧТЕНИЯ) В ИЮНЕ 2011 Г.

Елинов Н.П. (зам. директора института по научной работе)*

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

© Н.П. Елинов, 2011

PRINCIPAL RESULTS OF THE ALL-RUSSIAN SCIENTIFICALLY- PRACTICAL CONFERENCE IN MEDICAL MYCOLOGY (XIV KASHKIN READINGS) IN JUNE 2011

Yelinov N.P. (Deputy Director for Research Programs)

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

© N.P. Yelinov, 2011

Всероссийская научно-практическая конференция по медицинской микологии, или XIV Кашкинские чтения проведены 22-23 июня 2011 г. под эгидой Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга, ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина СПб МАПО – Научно-методический микологический центр Минздравсоцразвития России.

Зарегистрированных участников конференции было 485 человек и, примерно, столько же наблюдали за конференцией по TV (Systema on Line). Объявленная проблема конференции: «Микозы и микоаллергозы. Новые технологии в микробиологической диагностике». Участниками конференции и докладчиками также были представители Франции (доктор Х. Хамед), Германии (доктор М.Пикар-Моро) и Вели-

кобритании (доктор М. Холланд).

На открытии конференции выступил Ректор Санкт-Петербургской медицинской академии последипломного образования д.м.н. О.Г. Хурцилава, подчеркнувший определённые успехи в развитии медицинской микологии на базе СПб МАПО в последние годы и наметивший основные вехи укрепления материальной базы НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, принятые учёным советом СПб МАПО в мае текущего года. О.Г. Хурцилава поздравил участников с началом очередной научно-практической конференции по медицинской микологии, пожелал им здоровья и плодотворного труда в течение предстоящих, интенсивно загруженных дней.

От имени оргкомитета конференции и коллектива сотрудников НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина выступила с приветствием к участникам настоящего форума д.б.н. проф. Васильева Н.В.; она представила аудитории гостей из зарубежных стран, а также дополнила информацию о последующих заседаниях.

Тема «Новые технологии в микробиологической диагностике» была определяющей на первой пленарной сессии 20 июня 2011 г. и на секции 23.06.2011 г. Первым докладчиком, задавшим тон конференции, выступила Н.В. Васильева, представившая материалы о концепции развития микробиологических дисциплин в Российской Федерации и СПб МАПО. Фактически было проанализировано состояние микробиологических дисциплин в нашей стране, уровень их разобщённости при нивелировании объединяющей их микробиологии, объектами которой являются бактерии, грибы, водоросли и протисты, вирусы, или «организованные вирусные частицы». Докладчик также сравнила качественное состояние аппаратного оснащения микробиологической работы в разных странах и подчеркнула сравнительное отставание ряда соответствующих лабораторий в России; она продемонстрировала образцы новейшего специального оборудования с рекомендацией его приобретения в ближайшее время. Позитивные подвижки в этом направлении уже имеют место в СПб МАПО, где руководство утвердило на Совете академии конкретные рекомендации подобного рода, предложенные коллективом НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина в мае месяце текущего года. Следует помнить, что микробиология была, есть и будет впрямь объединяющей научно-практической дисциплиной, включающей все микробные объекты с присущими ей методами работы. Роль микробиологии как фундаментальной и прикладной науки заметно возросла в последние десятилетия.

Своеобразной иллюстрацией вышесказанному были доклады: доктора Хамда Х. (Франция) на тему «Инновационные технологии – от науки к рутинной практике. MALDI TOF масс-спектрометрия – метод для рутинной идентификации микроорганизмов»; доктора Пикара-Моро М. (Германия) на тему «Быстрая детекция и идентификация бактерий, грибов и

* Контактное лицо: Елинов Николай Петрович
тел.: (812) 303-51-40

вирусов методом полимеразной цепной реакции, сопряжённой с времяпролётной масс-спектрометрией с ионизацией электрораспылением». В названных докладах коллег из Франции и Германии MALDI TOF масс-спектрометрия метод является сравнительно новым для микробиологов всего мира (включая и российских). MALDI TOF MS расшифровывают: а) по-английски «Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry», б) по-русски «Матричная лазерная десорбционная ионизационная времяпролётная масс-спектрометрия». Метод разработан в 1980-х годах Карасом и Хилленкампом в Германии и Танака с коллегами – в Японии. Первое приборное оснащение было осуществлено в 1987 г. К. Танака (Япония) получил Нобелевскую Премию в области химии в 2002 г.

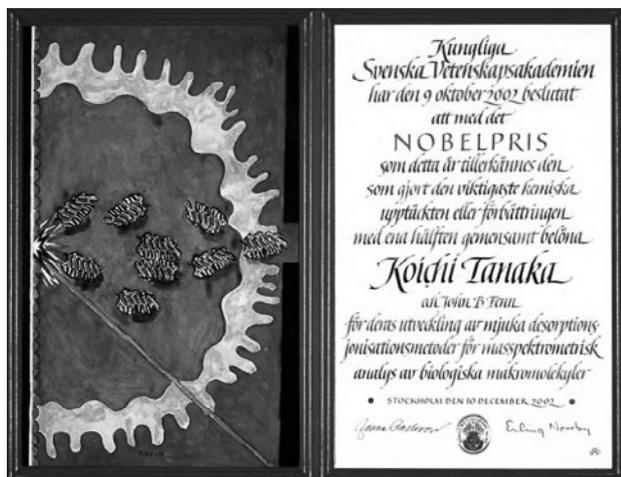
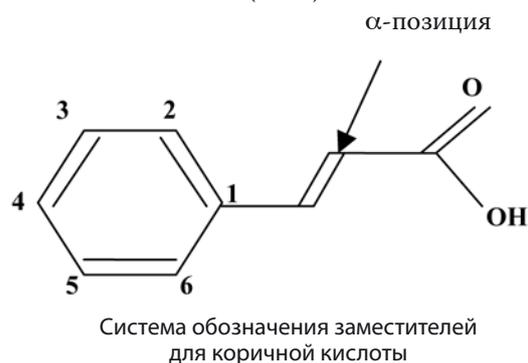


Фото 1. Вручение Нобелевской Премии Коичи Танака в Шведской Академии Наук 09 октября 2002 г., Стокгольм, Швеция

MALDI – Это техника ионизации, использованная в масс-спектрометрии, позволяющая анализировать биомолекулы (такие как протеины, пептиды и сахара) и большие органические молекулы (полимеры, дендримеры и другие макромолекулы), имеющие тенденции быть хрупкими и фрагментированными, когда ионизированы более условными методами ио-

низации. По характеру – это более подобно электроспрей-ионизации по сравнительной мягкости и образованным ионам (хотя это вызывает много меньше мультисозаряженных ионов).

Ионизация запускается лучом лазера (нормально – азотным лазером). Матрицу используют для защиты биомолекулы от разрушающего действия прямого лазерного луча и чтобы обеспечить выпаривание и ионизацию. Матрица состоит из кристаллизованных молекул, из коих три обычно используют в работе: **3,5-диметокси-4-гидроксикоричная кислота** (синапиновая кислота), **α -циано-4-гидроксикоричная кислота** (α -циано- или α -матрица) и **2,5-дигидроксибензойная кислота (DHB)**.



Готовят раствор одной из этих молекул часто в смеси высокоочищенной воды и органического растворителя (в норме – ацетонитрила – ACN) или этанола. Трифторуксусная кислота (TFA) также может быть добавлена. Органический растворитель обеспечивает растворение гидрофобных молекул в растворе, в то время как вода служит для такой же цели гидрофильным молекулам. Этот раствор закапывают на MALDI-пластину (обычно металлическая пластина, предназначенная для этой цели). Растворители испаряются, оставляя лишь ре-кристаллизованную матрицу, но теперь с молекулами аналита, распределенными через кристаллы. Матрица и аналит, как говорят, должны быть сокристаллизованными в MALDI-пятне. Не останавливаясь на других деталях, привожу схему последующих ступеней MALDI-TOF MS анализа на примере идентификации дерматомицетов (R.H. Jensen, D. Nielsen и M.C. Arendrup, 2011, Дания. ESCMID, 2011. Abst. # 1840).

Проблемы и задачи во многом сходны в обеих странах – Великобритании и России, но с учётом «перестройки в Российском здравоохранении», возникающие и возникшие трудности более очевидны у нас. Несомненно одно – медицинская микробиология приобрела новые возможности для становления и дальнейшего развития в совершенствовании диагностики и лечения различных инфекционных заболеваний.

В первый же день конференции были проведены 4 сателлитных симпозиума на следующие темы:

1) «**Инвазивный аспергиллёз – актуальная проблема XXI века**» – были и обсуждены 3 доклада:

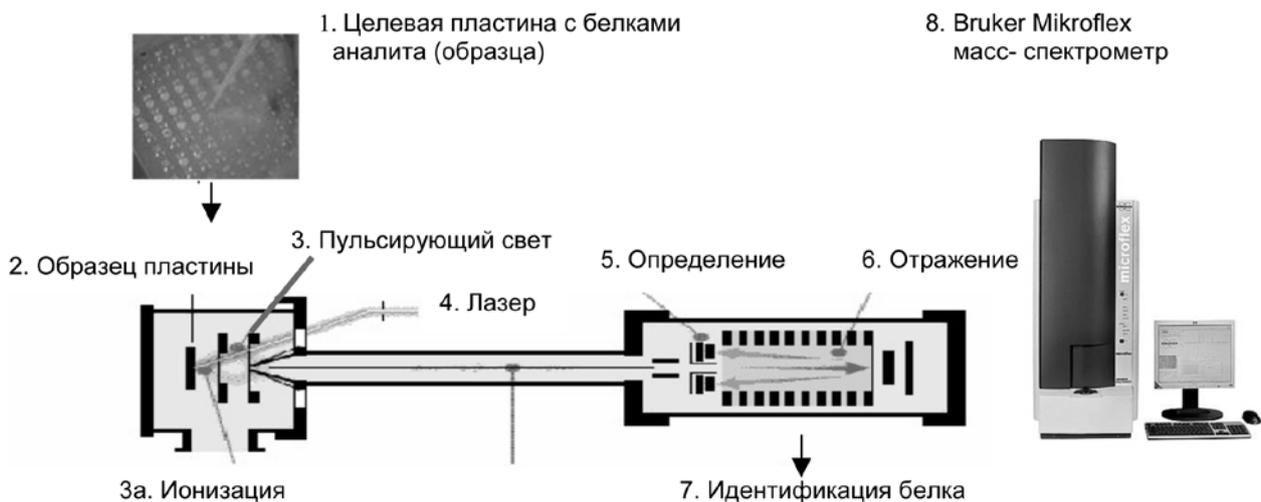


Схема проведения MALDI-TOF MS протеинов дерматомицетов.

Н.Н. Клишко «Возможности и приоритеты лечения инвазивного аспергиллёза»; М.О. Поповой «Правильный старт – лучший клинический результат: как лечить инвазивный аспергиллёз после трансплантации кровяных клеток»; А.С. Колбина «Фармакоэкономические аспекты лечения инвазивного аспергиллёза».

2) «**Наука и практика. Новые исследования антимикробной активности изоконазола**» – были заслушаны 3 доклада: И.А. Босака «Действие изоконазола в отношении избранных бактерий in vitro»; А.А. Степановой «Влияние изоконазола на ультраструктуру клеток двух видов бактерий»; Л.П. Котреховой «Роль бактериально-грибковой инфекции в патогенезе заболеваний кожи и методы её лечения».

3) «**Онихомикоз: мифы и реальность в диагностике и лечении**» с двумя докладами: Н.В. Васильевой, М.А. Пупковой, Н.Л. Кубасовой «Микроскоп, чашка Петри или ПЦР: что использовать в диагностике онихомикоза?», Л.П. Котреховой «Онихомикоз: от теории к практике».

4) «**Внутрибольничный кандидоз – новые возможности лечения**» с двумя докладами: Н.Н. Клишко «Микафунгин – новый эхинокандин», А.С. Колбина «Сколько стоит лечение инвазивного кандидоза?»

В первый же день были проведены две секции – «**Дерматомикозы I**» и «**Кандидоз в акушерско-гинекологической практике**» с тремя докладами в каждой: К.И. Разнатовского «Современные представления об этиопатогенезе онихомикоза и методы комплексной терапии», Г.А. Петровой «Опыт использования оптической когерентной томографии для сравнительной оценки эффективности топических противогрибковых препаратов» и У.В. Файзуллиной «Эффективность противогрибковой терапии при онихомикозе». На второй секции выступили с докладами О.Н. Жорж, А.К. Мирзабалаева «Целесообразность и эффективность комбинированных интравагинальных препаратов в лечении гинекологических инфекций», Ю.В. Долго-Сабурова «Кандидоз гени-

талий у женщин в постменопаузе», С.Н. Хостелиди, А.С. Габиева, Т.С. Богомолова и др. «Первый случай успешного лечения кандидозного перитонита в сочетании с пневмоцистной пневмонией в послеродовом периоде». Заключительным в этот день был проведен проф. А.К. Мирзабалаевой **Мастер-класс «Хронический рецидивирующий кандидоз гениталий и папилломавирусная инфекция у женщин: патогенез, диагностика и новые возможности лечения».**

В 19⁰⁰ 22 июня 2011 г. в Смольном соборе состоялось **ТОРЖЕСТВЕННОЕ МЕРОПРИЯТИЕ – вручение премии «За выдающиеся заслуги в развитии отечественной микологии»** (учредитель премии – ОАО «Валента Фармацевтика») **Чилиной Галине Анастасьевне** – зав. лабораторией Всероссийской Коллекции патогенных и условно-патогенных грибов, которому предшествовал торжественный молебен, а затем состоялся концерт Государственного симфонического оркестра Санкт-Петербурга под управлением заслуженного деятеля искусств России Николая Корнева (на фото).



Соллист – Лауреат Международных конкурсов Владимир Словачевский (виолончель); было блестяще

ще исполнено более десяти произведений великих классиков музыки, восторженно принятых слушателями. После концерта все желающие могли посетить звонницу Смольного собора.

23 июня 2011 г. во второй день работы конференции состоялись заседания секций – первая из них была посвящена *Морфолого-физиологическим свойствам некоторых групп микромицетов*; на ней с докладами выступили Н.П. Елинов «Грибы – меланогены как возможные условные патогены для человека и животных», М.В. Николенко «Хронобиологический метод изучения биологических свойств *Candida species*», А.А. Степанова «Ультраструктурные аспекты старения дрожжевых и мицелиальных форм патогенных грибов», Л.В. Филиппова, Е.В. Фролова, А.Е. Учеваткина, Н.В. Васильева, Е.П. Киселёва «Особенности спектра цитокинов, продуцируемых макрофагами при взаимодействии со штаммами *Cryptococcus neoformans* разной вирулентности in vitro».

Семь докладов были представлены на секции «**Дерматомикозы II**»: Л.П. Котреховой «Три составляющие эффективной терапии микоза стоп», Ю.А. Ивановой «Дерматомикозы у ревматологических больных», М.А. Пупковой «Особенности лабораторной диагностики онихомикоза», Т.М. Желтиковой, М.А. Мокроносковой, А.М. Глушаковой, Е.В. Гольшевой «Влияние топических фармпрепаратов на численность дрожжей рода *Malassezia*», И.В. Пиотровской, Т.В. Богдановой, Ю.В. Михайловой, Е.В. Пищик «Дерматомикозы, вызванные или ассоциированные с *Malassezia spp.*», Г.А. Чилиной, Т.С. Богомоловой «Действие устройства для обработки обуви «Тимсон» с удвоенным количеством ультрафиолетовых ламп внутри каждого прибора на штаммы основного возбудителя онихомикозов – *Trichophyton rubrum*», Т.В. Медведевой, Г.А. Чилиной «Онихомикоз как редкий клинический вариант микроспории».

На ранее упомянутой секции «**Новые технологии в микробиологической диагностике II**» выступили с докладами: Е.Н. Ильина «Масс-спектрометрия – революция в клинической микробиологии», С.М. Игнатъева «Иммунологическая диагностика инвазивного аспергиллёза», А.Г. Полищук «Молекулярные методы определения резистентности грибов – возбудителей микозов», И.В. Выборнова «Мониторинг чувствительности дрожжей в Санкт-Петербурге».

На секции «**Внутри- и внебольничные микозы**» были заслушаны доклады В.Н. Вавилова «Редкие микозы у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток», Ю.В. Борзовой «Инвазивный аспергиллёз лёгких у пульмонологических больных», Г.Б. Шадрина «Распространённость грибковых заболеваний уха в Москве», И.Д. Шляга, Э.А. Надырова, Д.Д. Редько, Н.Н. Новиковой «Гистологическая диагностика грибковых синуситов и ларингитов», М.Г. Чесноковой, В.А. Чеснокова, В.Г. Сунцова «Динамика выявления *Candida albicans* в процессе ортодонтического лечения у детей с зубочелюстными аномалиями».

На секции «**Грибы – биодеструкторы**» материалы доложили О.Б. Градусова (с соавторами Н.Е. Иванушкиной, Г.А. Кочкиной, С.М. Озерской) «Санитарно-эпидемиологические правила и новые задачи судебной экспертизы», С.М. Озерская (с соавторами С.А. Семёновым, Н.Е. Иванушкиной, Г.А. Кочкиной) «Микроорганизмы, используемые для испытания биостойкости промышленных материалов», А.А. Маметьева и И.Э. Павлова «Грибостойкость строительных материалов».

В этот же день были проведены **три МАСТЕР-КЛАССА**: профессором М.А. Шевяковым «Лекарственные поражения печени при антифунгальной терапии», профессором Н.В. Шабашовой «Иммунные функции барьерных тканей в защите от микромицетов», профессором А.В. Соболевым и к.х.н. О.В. Ааком «Диагностика и лечение микогенной аллергии. Проблемы и решения».

23 июня 2011 г. состоялось заседание Комиссии по номенклатуре патогенных и условно-патогенных грибов, на котором утвердили окончательный вариант состава комиссии, а также одобрили намеченную в прошлом году и выполняемую ныне программу публикаций в форме выпусков для медицинских микологов в Российской Федерации.

Компании – участники, поддержавшие данный форум, имели возможность продемонстрировать в течение работы конференции свою продукцию, а также информационные материалы, представляющие интерес для участников Кашкинских чтений и сотрудников академии. Была также проведена итоговая дискуссия по конференции в целом и принято соответствующее решение.

РЕШЕНИЕ, единогласно принятое на заключительном заседании участников научно-практической конференции по медицинской микологии 23 июня 2011 г. в г. Санкт-Петербурге.

В конференции приняли участие 485 человек, включая гостей – докладчиков из Франции, Германии, Великобритании, Беларуси, Казахстана, Украины и др. Проблема конференции «Микозы и микоаллергозы. Новые технологии в микробиологической диагностике» реально была определяющей в большинстве докладов. В целом, конференция прошла на высоком организационном уровне и содержательной по обсуждённым материалам.

Постановили:

1. Одобрить проведенную конференцию 22 и 23 июня 2011 г. в надежде на то, что в будущем году (в год 30-летия со дня основания НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина) аналогичное мероприятие будет проведено на таком (или более высоком) уровне.

2. Одобрить предложение по реформе медицинской микробиологии в плане:

- 2.1. разработки федеральной программы, в рамках которой ввести специальность(-и) медицинская/клиническая микробиология;
- 2.2. организации многоуровневой микробиологи-

ческой службы в зависимости от региона, профиля стационара и т.д.;

2.3. подготовки нормативно-технической документации (НТД);

2.4. активизации участия в системе внешнего контроля качества работы по разделу клинической микробиологии.

3. Просить МЗ Российской Федерации включить в состав научно-методического микологического Центра МЗ РФ при НИИ медицинской микологии им. Кашкина ФГОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» (Санкт-Петербург) Российскую Комиссию по терминологии патогенных и условно-патогенных грибов.

4. Практиковать проведение мастер-классов на избранные темы по медицинской микологии и в по-

следующие годы на подобных конференциях.

5. Ввести в практику работы конференций – Кашкинских чтений – приглашение известных лиц по специальностям:

5.1. микологи – систематики;

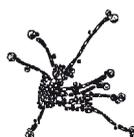
5.2. лабораторные микробиологи;

5.3. клинические микологи;

5.4. аллергологи;

5.6. патоморфологи.

6. Выразить благодарность представителям компаний – участников конференции, секретарям, демонстраторам видеоматериалов, регистраторам и всем лицам, способствовавшим организации и проведению завершившегося форума.



Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования (СПб МАПО)
Научно-исследовательский институт медицинской микологии им. П.Н.Кашкина (НИИ ММ) СПб МАПО
 Адрес редакции: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28. Тел.: (812) 303-51-45, факс (812) 510-62-77
 E-mail: mycobiota@spbmapo.ru. Заведующая редакцией: Е.С.Гукова.

Saint Petersburg Medical Academy of Postgraduate Education
Kashkin Research Institute of Medical Mycology
 Address of Editorial Office: Santiago-de-Cuba str., 1/28, Saint Petersburg, 194291, RUSSIA. Tel.: (812) 303-51-45, Fax (812) 510-62-77
 E-mail: mycobiota@spbmapo.ru. Manager of Editorial Office: E.S.Gukova

«ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»
 Рег. № 77-1396 от 20.12.1999 г. ISSN 1999-6780
 Журнал включен в реферативный журнал и базы ВИНТИ.
 Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».

Оригинал-макет — НИИ «Медицинской микологии им. П. Н. Кашкина СПб МАПО».
 Подписано в печать 01.10.2011. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать офсетная.
 Усл. печ. л. 16. Тираж 999 экз.

КОНГРЕССЫ И КОНФЕРЕНЦИИ

5TH TRENDS IN MEDICAL MYCOLOGY

2-5 OCTOBER 2011

VALENCIA, SPAIN

5 КОНФЕРЕНЦИЯ «ТЕНДЕНЦИИ В МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

2-5 ОКТЯБРЯ 2011

ВАЛЕНСИЯ, ИСПАНИЯ

Congress secretariat:

P.O. Box 440, 5201 AK's-Hertogenbosch
The Netherlands
Tel +31-73- 690-1415, Fax+31-73-690-1417
info@congresscare.com; www.congresscare.com

22ND ESCMID (EUROPEAN SOCIETY OF CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES)

31 MARCH – 3 APRIL 2012

LONDON, UNITED KINGDOM

22 ЕВРОПЕЙСКОЕ ОБЩЕСТВО КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

31 МАРТА – 3 АПРЕЛЯ 2012

ЛОНДОН, ВЕЛИКОБРИТАНИЯ

Congress secretariat:

22nd ECCMID 2012, c/o Congrex Switzerland Ltd.
Freie Strasse 90
4002 Basel, Switzerland
Phone +41 61 686 77 11, Fax +41 61 686 77 88
E-mail: basel@congrex.com; eccmid@escmid.org

18TH CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR HUMAN AND ANIMAL MYCOLOGY 2012 (ISHAM 2012)

JUNE 11-15, 2012

BERLIN, GERMANY

18-КОНГРЕСС МЕЖДУНАРОДНОГО ОБЩЕСТВА ПО МИКОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ - 2012

11-15 ИЮНЯ 2012

БЕРЛИН, ГЕРМАНИЯ

General Scientific Topics:

Biochemistry	Host fungus interactions
Virulence and pathogenicity	Cell biology
Functional genomics	Molecular mycology
Immunology	Genetics
Antifungals	Resistance
Veterinary Mycology	Public health
Epidemiology	Taxonomy
Diagnosis	Therapy
	Clinical Mycology

Congress & Exhibition Office:

INTERPLAN Congress, Meeting & Eventmanagement AG
Albert-Rosshaupter-Str. 65
81369 Munich, Gemany
Phone: +49 (0)89 54 82 34-0, Fax: +49 (0)89 54 82 34-43
E-mail: isham2012@interplan.de
www.isham2012.org

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ В ЖУРНАЛ «ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ»

Журнал «Проблемы медицинской микологии» нацелен на публикацию оригинальных, ранее не опубликованных в других изданиях в России или за рубежом, статей, научных обзоров, дискуссий, рецензий на книги, методических разработок, хроники и информации. Предварительные сообщения не принимаются. Статьи необходимо сопровождать направлением от учреждения (-й), в котором (-ых) выполнена работа.

Каждый автор может представить не более 2-х статей в один номер журнала.

Статьи представляются на русском языке с обязательным расширенным резюме на английском языке объемом не более 20 строк. Можно представлять статьи на английском языке с рефератом на русском языке в объеме до 20 строк.

Статьи представляются в редакцию по почте с приложением диска (с распечаткой текста на бумаге в 2-х экземплярах) или по электронной почте (mycobiota@spbmaro.ru), подготовленными в текстовом редакторе Win Word. Статьи должны быть напечатаны шрифтом № 12 через 1,5 интервала. Все страницы должны быть пронумерованы.

Размер рукописей не должен превышать 12 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы, фотографии и подписи к ним, список цитированной литературы, представляемые на отдельных листах. Количество иллюстраций не должно превышать двух страниц при их плотном размещении друг к другу.

Рукопись статьи подписывается автором (соавторами), на отдельной странице написать ф.и.о. (полностью) одного из авторов, его должность, адрес электронной почты (для связи) и номер телефона.

Правила оформления статей:

Сначала пишется название статьи заглавными буквами (шрифт 12 – жирный). Затем через 2 интервала указываются фамилии авторов, инициалы и должности (шрифт 12 – жирный). Далее через 2 интервала пишется название учреждения, в котором выполнена работа. Затем через 2 интервала печатать резюме на русском языке (без написания слова «резюме»). Через 2 интервала указать до 7 ключевых слов. Затем через 2 интервала (шрифт – 12) пишется заголовок на английском языке, фамилии, инициалы и должности автора (-ов), резюме (без написания слов «abstract, summary») и ключевые слова (не более 7).

Затем через 3 интервала и с красной строки печатать текст статьи в следующем порядке: краткое введение, материалы и методы, результаты и их

обсуждение, выводы, цитированная литература.

Латинские названия грибов необходимо писать курсивом; если в заголовке названы род и вид гриба, то после него следует указывать автора, впервые писавшего вид (например, *Aspergillus fumigatus* Fres.); в тексте такая форма уже не повторяется и при повторном упоминании гриба название рода сокращают до первой буквы (например, при первом написании в тексте *Aspergillus fumigatus*, при повторениях - *A. fumigatus*).

Автор (-ы) вида должен (-ны) быть указан (-ы) не только в заголовке к статье, но и при первом упоминании в тексте (если нет этого в заголовке) и в возможном списке видов. В подписях к рисункам и в надписях к таблицам полные названия рода и вида приводятся один раз.

Названия учреждений при первом упоминании в тексте даются полностью, и сразу же в скобках приводят их принятые сокращения, которыми пользуются в последующем тексте статьи, например, Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования (ГОУ ДПО СПб МАПО), Московская государственная медицинская академия им. И.М. Сеченова (ММА им. Сеченова) и т.д.

Четко писать и различать О, о, и 0 (нуль), 1 и I (единицу и заглавную латинскую И), I и J, q и g, заглавные буквы О по-русски и Q по-английски. Подстрочные примечания должны иметь сквозную нумерацию по всей статье. Содержание таблиц не должно дублировать текст. Таблицы должны иметь порядковые номера, если их больше одной. Текст таблиц печатать через 2 интервала.

Все термины, употребляемые в статье, должны строго соответствовать действующим номенклатурам (анатомической, гистологической и т.д.), названия лекарственных средств - Государственной Фармакопее, единицы физических величин - международной системе единиц (СИ).

В тексте при ссылке на работу иностранных авторов их фамилии приводятся в русском написании и рядом в скобках - в оригинальном написании с указанием года опубликования работы, например: «Штайб (Staub, 1992) наблюдал...». Ссылки на работы располагать в хронологическом порядке годов опубликования работ.

Литература, упоминаемая в тексте (не должна быть старше 10 лет), приводится списком в конце статьи в том порядке, в котором она цитирована в тексте работы; соответствующие номера статей проставляются в тексте в квадратных скобках.

Рисунки (фото) должны иметь порядковые номера, на которые следует ссылаться в тексте статьи. Рисунки (фото) прилагаются в отдельном конверте (фотоснимки — в двух экземплярах) или в электронном виде. На микрофотографиях изображается масштаб, в подписях к ним необходимо указывать собственные увеличения объектива и окуляра, и, возможно, коэффициент усиления увеличения за счет дополнительных оптических приспособлений (например,

для некоторых бинокулярных микроскопов х 1,5). На обороте рисунка указываются мягким карандашом без нажима фамилия автора, номер и желательное уменьшение рисунка (фото), верх рисунка.

Для статей, написанных на английском языке, литература, цитируемая в тексте и приводимая в списке, должна быть представлена в английском переводе, например: *Брондз Б.Д.* Т-Лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании. – М.: Наука, 1987. – 472 с. *Brondz B.D.* T-Lymphocytes and their receptors in the immunological recognition. – Moscow: Science, 1987. – 472 p. (in Rus).

Оформление списка литературы.

Для книг указываются фамилии и инициалы авторов, название книги, место издания (город), издательство, год, общее количество страниц, например: *Беккер З.Э.* Физиология и биохимия грибов. – М.: Изд-во МГУ, 1988. – 216 с. Для статей, опубликованных в журналах, указываются фамилии и инициалы авторов, название статьи, название журнала, год, том, номер, первая и последняя страницы статьи, например: *Антонюк В. А.* Характеристика лектина из плодовых тел *Boletus Luridus* Schff.ex, Fr. // Микология и фитопатология. – 1997. – Т. 31, Вып. 1. – С. 35-41.

Для статей, опубликованных в сборниках, указываются фамилии и инициалы авторов, название статьи, название сборника, место издания (город), издательство, год, первая и последняя страницы статьи, например: *Пармasto Э.* Жизненные формы высших

базидиальных грибов // Проблемы изучения грибов и лишайников. – Таллинн: Изд-во АН ЭССР, 1965. – С. 64-68.

Для авторефератов диссертаций, например: *Аванесов С. Г.* Биологические основы отбора вирулентных штаммов энтомопатогенного гриба *Verticillium lecanii* Zimm: Автореф. дисс...канд. биол. наук. – Л., 1987. – 19 с.

Редакция оставляет за собой право сокращать статьи и вносить редакционные исправления.

В случае возвращения автору рукописи статьи на переработку дата ее поступления сохраняется в течение 4 месяцев. При отклонении работы статья не подлежит возвращению автору.

В конце статьи, принятой к публикации, приводится фамилия рецензента.

Частота выпуска журнала: 1 номер в квартал, 1 том в год.

Все статьи публикуются БЕСПЛАТНО.

По вопросам размещения рекламы обращаться по адресу редакции (см. ниже).

Вся корреспонденция направляется по адресу: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28, НИИ ММ им.П.Н.Кашкина СПб МАПО.

Тел: (812) 303-51-45;

тел./факс: (812) 510-62-77

E-mail: mycobiota@spbmapo.ru;

egukova@mail.ru

Заведующая редакцией: Гукова Елена Станиславовна

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ СТАТЕЙ!

Направляя статью для размещения в журнале ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (далее – Академия) «Проблемы медицинской микологии» автор статьи предоставляет Академии право использовать статью в любой форме и любым способом, предусмотренными п. 2 ст. 1270 Гражданского Кодекса Российской Федерации, в том числе: воспроизведение статьи; распространение статьи путем продажи или иного отчуждения его оригинала или экземпляров; сообщение в эфир; сообщение по кабелю; перевод или другая переработка статьи; доведение статьи до всеобщего сведения; передача права использования статьи третьим лицам (сублицензионный договор); извлечение и обработка метаданных статьи.

Автор статьи гарантирует, что он является обладателем передаваемых Академии прав (правообладателем).

Территория, на которой допускается использование прав на статью, не ограничена.

Передача прав на статью осуществляется без выплаты автору статьи вознаграждения.

Академия вправе использовать статью в течение срока действия исключительного права правообладателя на статью.

Автор предоставляет Академии право обработки своих персональных данных.

В связи с вышеизложенным, редакционная коллегия журнала «Проблемы медицинской микологии» просит авторов, **вместе с сопроводительным письмом от организации, присылать бумагу с текстом следующего содержания:**

«Направляя статью для размещения в журнале ГОУ ДПО «Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (далее – Академия) «Проблемы медицинской микологии» я _____ (указать ФИО) предоставляю Академии право использовать мою статью _____ (название статьи) в любой форме и любым способом, указанном в «Правилах предоставления рукописей авторами» журнала «Проблемы медицинской микологии».

Сопроводительное письмо к статье должно быть написано и подписано собственноручно автором статьи.