

## СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений . . . . .	5
Введение. . . . .	7
<b>Глава 1. Механизмы защиты млекопитающих против грибов <i>Aspergillus fumigatus</i></b> . . . . .	11
1.1. Роль врожденной системы иммунитета в защите от патогенов, попадающих ингаляционным путем . . . . .	11
1.2. Антиген-специфический иммунный ответ на грибы <i>A. fumigatus</i> . . . . .	25
<b>Глава 2. Общие факторы патогенеза, эпидемиология, классификация и клинические формы аспергиллеза легких</b> . . . . .	34
2.1. Общие факторы патогенеза аспергиллеза . . . . .	34
2.2. Частота выявления аспергиллеза легких . . . . .	36
2.3. Классификация аспергиллеза легких . . . . .	36
2.4. Клинические формы аспергиллеза легких . . . . .	37
<b>Глава 3. Инвазивный аспергиллез легких.</b> . . . . .	39
3.1. Эпидемиология и патогенез инвазивного аспергиллеза легких . . . . .	39
3.2. Клиника острого инвазивного аспергиллеза легких. . . . .	42
3.3. Диагностика инвазивного аспергиллеза легких. . . . .	44
3.4. Мониторинг инвазивного аспергиллеза . . . . .	58
3.5. Лечение острого инвазивного аспергиллеза легких . . . . .	59
3.6. Комбинированная антифунгальная терапия . . . . .	78
3.7. Хирургическое лечение при инвазивном аспергиллезе . . . . .	84
3.8. Эмпирическая терапия при лихорадке неясного генеза . . . . .	87
3.9. Профилактика инвазивного аспергиллеза легких. . . . .	89
3.10. Профилактика нозокомиального (внутрибольничного) аспергиллеза . . . . .	90
<b>Глава 4. Хронические формы инвазивного аспергиллеза легких</b> . . . . .	91
4.1. Патогенез хронического некротического легочного аспергиллеза (ХНЛА) . . . . .	91
4.2. Клиника и диагностика хронического некротического легочного аспергиллеза . . . . .	96
4.3. Лечение хронического некротического легочного аспергиллеза. . . . .	104
<b>Глава 5. Аспергиллемы легких</b> . . . . .	111
5.1. Общие сведения . . . . .	111
5.2. Патогенез развития аспергиллем легких . . . . .	111

5.3. Частота выявления аспергиллем легких . . . . .	114
5.4. Клинические проявления аспергиллемы . . . . .	115
5.5. Диагностика аспергиллем легких . . . . .	116
5.6. Лечение аспергиллем легких. . . . .	121
5.7. Исходы и прогноз при аспергиллемах легких . . . . .	126
<b>Глава 6. Аллергические формы аспергиллеза легких. . . . .</b>	<b>128</b>
6.1. Патогенез развития аллергических форм аспергиллеза легких .	128
6.2. Тяжелая бронхиальная астма с микогенной сенсибилизацией .	134
6.3. Экзогенный аллергический альвеолит и грибы рода <i>Aspergillus</i> . .	136
6.4. Аллергический бронхолегочный аспергиллез. . . . .	138
6.5. Клиника и диагностика аллергического бронхолегочного аспергиллеза . . . . .	143
6.6. Дифференциальная диагностика аллергического бронхолегочного аспергиллеза . . . . .	154
6.7. Лечение аллергического бронхолегочного аспергиллеза . . . . .	155
<b>Заключение . . . . .</b>	<b>163</b>
<b>Список литературы. . . . .</b>	<b>164</b>

### 3.2. КЛИНИКА ОСТРОГО ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ

В целом клинические симптомы инвазивного аспергиллеза, как и других инвазивных микозов, неспецифичны и, таким образом сами по себе не позволяют установить своевременный диагноз. Ранними симптомами острого ИАЛ являются кашель (обычно сухой) и лихорадка. У больных, получающих КС, температурная реакция может быть менее выраженной. Кровохарканье не является характерной особенностью острого ИАЛ. Одышка чаще отмечена при диффузных процессах и трахеобронхите. В некоторых случаях клиническая картина может напоминать острую легочную эмболию.

Аспергиллы могут вызывать трахеобронхиты, которые наиболее часто описаны у лиц, перенесших трансплантацию легких, а также у больных СПИДом. У таких пациентов обычно отмечается выраженная одышка, кашель и хрипы, они обычно откашливают слизистые пробки. Рентгенологическое исследование грудной клетки может быть нормальным или выявлять утолщение стенок бронхов, неоднородные инфильтраты, консолидацию и центрлобулярные узлы.

Описаны различные виды *аспергиллезных трахеобронхитов*:

- ♦ обструктивный бронхиальный аспергиллез — состояние, при котором толстые слизистые пленки, наполненные мицелием аспергиллов, обнаруживаются в дыхательных путях; воспаление слизистой оболочки или инвазия очень незначительны;
- ♦ язвенный трахеобронхит, при котором имеется локальная инвазия трахеобронхиальной слизистой оболочки или хрящевой мицелием грибов;
- ♦ псевдомембранозный трахеобронхит, характеризующийся экстенсивным воспалением и инвазией трахеобронхиального дерева с псевдомембранами, состоящими из некротического дебриса и мицелия гриба, покрывающих слизистую оболочку.

У реципиентов легочных трансплантатов также иногда развивается аспергиллез культуры. Это осложнение является результатом инфекции шовного материала, и таких проявлений можно избежать, если использовать монофиламентный нейлон, а не

шелковые нитки. Такие пациенты жалуются на кашель и могут иметь кровохарканье.

Трахеобронхиальные поражения также встречаются у больных гемобластозами, после трансплантаций стволовых клеток и при ХОБЛ.

У больных ИАЛ проксимальную трахеобронхиальную локализацию поражения отмечали при бронхоскопии в 20% случаев [Jettamud P. et al., 1994]. Поражение обычно стремилось к периферическому распространению. Отдельные авторы считают аспергиллезные трахеобронхиты относительно редким проявлением ИАЛ и оценивают их частоту примерно в 7% случаев, наблюдая при этой форме изъязвления или пленчатые налеты на слизистой бронхов [Kemper C. et al., 1993]. Между тем, такое утверждение представляется довольно спорным, поскольку воспалительные изменения в дыхательных путях выявляются при бронхоскопии практически во всех случаях ИАЛ. Это не удивительно, так как именно трахеобронхиальное дерево является входными воротами для аспергиллезной инфекции. При фибробронхоскопии изменения слизистой оболочки бронхов воспалительного характера мы наблюдали у всех больных. J. Sancho и соавт. (1997) отмечали необычные проявления аспергиллеза у больного острым лимфобластным лейкозом. При бронхоскопии во всех бронхах на бледной слизистой оболочке наблюдали множественные узелки белого цвета диаметром 3–5 мм. Мицелий *Aspergillus* был обнаружен при биопсии одного из узлов и при исследовании промывных вод бронхов. Несмотря на проводимую терапию амфотерицином В (АТ-В), процесс развился в двухстороннюю пневмонию, множественные абсцессы в мозгу и щитовидной железе и привел к смерти больного. В области легочных инфильтратов часто наблюдали образование полостей. Возможно также формирование в этой области мицетом [Гуртовенко И. Ю. и др., 1992]. Гистологическая картина инвазивного аспергиллеза приведена на рис. 10.

При посмертном анализе недиагностированных случаев ИАЛ легких у больных с выраженной иммуносупрессией также нередко определяют наличие микотической микст-инфекции: кандидоза и аспергиллеза. В таких случаях прижизненная диагностика кандидоза, как правило, не вызывала сложностей, поскольку обычно наблюдали характерные налеты на слизистой оболочке полости рта и симптоматику со стороны пищевода, а при микроскопии налетов обнаруживали псевдомицелий *Candida*. Появление





Рис. 10. Мицелий гриба *Aspergillus* в ткани легкого при инвазивном аспергиллезе (из библиотеки изображений Kaminski)

лихорадки и инфильтратов на этом фоне в ряде случаев привело к предположению о развитии инвазивного кандидоза легких и назначению флуконазола, в спектр активности которого не входят грибы *Aspergillus* spp. Неэффективность такой терапии иногда расценивали как отсутствие микотического поражения легких.

### 3.3. ДИАГНОСТИКА ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ

Современные методы диагностики инвазивного аспергиллеза направлены на возможно более раннее выявление микотического процесса, так как это позволяет существенно повысить выживаемость. Между тем, несмотря на некоторый прогресс за последние годы, диагностика инвазивного аспергиллеза по-прежнему остается трудной задачей.

В 2002 г. группа по изучению микозов Европейской организации по исследованию и лечению рака предложила критерии диагноза инвазивных грибковых инфекций для иммунокомпрометированных больных раком и больных, перенесших транс-

плантацию гемопоэтических стволовых клеток. Эти критерии в 2008 г. были модифицированы. В поздней интерпретации было исключено первоначальное разделение на «большие» и «малые» критерии.

Критерии для доказанного, вероятного и возможного инвазивного аспергиллеза легких в соответствии с этим консенсусом представлены в табл. 6.

Таблица 6

Диагностические критерии инвазивного аспергиллеза легких (адаптировано из De Pauw et al., 2008)

Диагноз	Критерии
Доказанный	Гистологическое и цитопатологическое исследование легочной ткани выявляет мицелий при биопсии с признаками тканевого повреждения <b>или</b> положительный результат культурального исследования на грибы <i>Aspergillus</i> материала, полученного из легких в ходе стерильной процедуры, <b>плюс</b> клинические или рентгенологические критерии, соответствующие инфекции
Вероятный	Наличие факторов риска <b>плюс</b> микологические тесты (выявление грибов <i>Aspergillus</i> при микроскопии, или высев из мокроты или БАЛ, или положительный тест на галактоманнан)
Возможный	Наличие факторов риска <b>плюс</b> клинические критерии, соответствующие инфекции

По течению инвазивный аспергиллез обычно подразделяют на острый (менее 1 мес до установления диагноза), подострый (более 1 мес до установления диагноза) или хронический (более 3 мес после установления диагноза).

#### Критерии вероятного инвазивного аспергиллеза

##### Факторы риска:

- ♦ нейтропения (менее  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  более 10 дней, связанная по времени с началом грибковой инфекции);
- ♦ пересадка аллогенных стволовых клеток;



- ♦ длительное использование кортикостероидов (исключая пациентов с аллергическим бронхолегочным аспергиллезом) в средней минимальной дозе 0,3 мг/(кг · день), эквивалентной преднизолону, более 3 нед;
- ♦ лечение другими препаратами, вызывающими супрессию Т-клеток, например циклоспорином, блокаторами фактора некроза опухоли  $\alpha$ , специфическими моноклональными антителами (такими, как алемтузумаб) или аналогами нуклеозида в течение последних 90 дней;
- ♦ тяжелые врожденные иммунодефициты, такие как гранулематозная болезнь; или тяжелые комбинированные иммунодефициты.

### Клинические критерии

При поражении нижних дыхательных путей (наличие одного из следующих трех симптомов на КТ):

- плотные, четко отграниченные очаги с симптомом «венчика» или без него;
- симптом «полумесяца»;
- полость.

При трахеобронхите:

- трахеобронхиальные изъязвления, узлы, псевдомембраны, бляшки или струпья, обнаруженные при бронхоскопии.

### Микологические критерии

- ♦ Прямые тесты (цитология, прямая микроскопия или культуральное исследование).
- ♦ Обнаружение мицелиальных грибов в мокроте, БАЛ, браш-биоптатах.
- ♦ Наличие одного из следующих признаков:
  - обнаружение элементов мицелиального гриба при микроскопии;
  - выделение культуры *Aspergillus*.
- ♦ Непрямые тесты (определение антигена или компонентов клеточной стенки):
  - галактоманнанный антиген в сыворотке крови, БАЛ или цереброспинальной жидкости;
  - $\beta$ -d-глюкан в сыворотке крови.

Таким образом, для постановки диагноза «вероятный инвазивный аспергиллез» необходимо наличие факторов риска, клинических

и микологических критериев. Ситуации, когда имеются факторы риска и клинические критерии, но отсутствуют микологические, рассматривают как «возможный инвазивный аспергиллез».

Золотым стандартом в диагностике аспергиллеза остается гистологическое подтверждение инфекции, полученное при биопсии из очага поражения. Это исследование позволяет исключить другие диагнозы, такие как злокачественные новообразования и немикотические поражения. Однако биопсию не всегда возможно выполнить, учитывая угрозу возникновения кровотечения, так как у больных часто имеется тромбоцитопения. Характер полученной гистологической картины может меняться в зависимости от подлежащего заболевания.

Обнаружение элементов грибов в биоптате подтверждает диагноз, хотя даже в случаях активного процесса образцы тканей с грибами могут и не попасть в биоптат. Однако для окончательного диагноза необходимо гистологическое исследование с обнаружением ветвящегося под острым углом, септированного, непигментированного мицелия шириной 2–4 мкм и культуральное исследование (посев) биоптатов вовлеченного органа на грибы рода *Aspergillus*. Следует помнить, что в крови, спинномозговой жидкости и костном мозге обнаружить аспергиллы удается крайне редко, а трансbronхиальная или браш-биопсия часто дают ложноотрицательные результаты (С-III). Если имеются эндобронхиальные очаги, их биопсия может оказаться полезной для установления диагноза. Мицелий аспергиллов в препарате лучше всего идентифицировать метенамин-серебряной окраской по Гомори–Грокотт (GMS) и методом окраски Шифф-йодной кислотой (ШИК, или PAS-реакция) (В-III). Эти методы желательны включать в первичное исследование тканей при подозрении на инвазивное грибковое поражение. Нужно отметить, что мицелий грибов *Aspergillus* spp. трудно отличить от мицелия грибов-возбудителей феогифомикозов, например *Fusarium* spp., *Scedosporium apiospermum* (*Pseudoallescheria boydii*) и некоторых других видов. Кроме того, серьезным препятствием для биопсии у больных с гемобластозами является риск геморрагических осложнений, так как эти больные часто имеют тромбоцитопению [Rosenberg A. et al., 1993; Vehreschild A. et al., 2010]. Таким образом, гистологическое подтверждение диагноза во многих случаях невозможно и диагноз устанавливают на основании совокупности факторов риска (иммуносупрессия), клинических



# АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ

## 6.1. ПАТОГЕНЕЗ РАЗВИТИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ФОРМ АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ

Гиперчувствительность к плесневым грибам рода *Aspergillus* проявляется в легочной ткани тремя основными синдромами [Pennington J., 1980]:

- аллергической бронхиальной астмой;
- экзогенным аллергическим альвеолитом (ЭАА);
- аллергическим бронхолегочным аспергиллезом (АБЛА).

### Генетические особенности иммунной реакции на основные аллергены

В основе иммунной реакции на различные аллергены, такие как пищевые, пыльцевые и бытовые, лежит поликлональная активация Т- и В-клеток, распознающих чужеродные белки, поступающие в организм в низких концентрациях. Основную группу больных составляют люди с ярко выраженной генетической предрасположенностью. У таких людей первые признаки аллергической реакции зачастую наблюдаются в раннем детстве в виде атопического дерматита. В этом случае первичная активация Т-клеток, принимающих участие в аллергическом процессе, ассоциирована, по-видимому, с распознаванием пищевых белков, так как их концентрация много выше, чем концентрация респираторных аллергенов. Проявлением активации Т-клеток на пищевые белки является детская экзема, которая может наблюдаться в очень раннем возрасте. Известно, что только часть детей имеет пищевую аллергию. Совершенно очевидно, что столь раннее проявление болезни детерминировано генетически. В настоящее время активно ведутся поиски генов, ответственных за аллергические реакции. С нашей точки зрения, основные факторы генетической предрасположенности к

аллергии на распространенные аллергены связаны с особенностями функционирования слизистых оболочек организма, относительно легко проницаемых для аллергенов. Раннее проявление дефекта слизистой оболочки связано с тем, что в детстве недостаток пищеварительных ферментов способствует получению полипептидных фрагментов, сохраняющих антигенную структуру и способных распознаваться иммунной системой как чужеродные антигены. Введение пищеварительных ферментов в схему лечения аллергии обычно позволяет облегчить симптомы заболевания. Механизмы функционирования слизистой оболочки по транспорту полипептидов через слой эпителия пока изучены плохо. Однако известно, что в этом процессе принимают участие белки-сурфактанты и пентраксины.

### Участие врожденной системы иммунитета в аллергических реакциях

Ранее мы уже описывали основные механизмы функционирования врожденной системы иммунитета, где основными участниками являются фагоцитирующие клетки, экспрессирующие на своей поверхности специальные TLR-рецепторы, служащие своего рода датчиками присутствия поблизости патогена. Следует сказать, что основные аллергены, к которым традиционно относят пищевые, пыльцевые и бытовые аллергены, не имеют лигандов для системы TLR, а значит, не способны стимулировать фагоцитоз. Следовательно, врожденная система иммунитета не замечает наличия аллергенов поблизости. Дендритные клетки, имеющие способность к макропиноцитозу (захвату окружающей внеклеточной жидкости и ее перевариванию), способны захватывать аллергены неспецифическим путем. В норме это не приводит к их активации и миграции в лимфатический узел. В этом, собственно, и состоит основная проблема аллергии.

### Участие В-клеток в инициации аллергических реакций

В том случае, если бы аллергены имели лиганды к TLR-рецепторам фагоцитов, то они быстро бы элиминировались из циркуляции за счет захвата фагоцитами. При отсутствии TLR-лигандов аллергены, попавшие в ткань или кровь, захватываются В-клетками через поверхностный иммуноглобулиновый рецептор. Известно, что В-клетки имеют на своей поверхности



иммуноглобулиновые рецепторы, способные распознавать различные как белковые, так и небелковые структуры. Каждая В-клетка несет рецептор определенной специфичности, однако репертуар всей популяции В-клеток в организме способен распознавать любые структуры, с которыми организм может встретиться в течение своей жизни. Так же, как макрофаги и дендритные клетки, В-клетка способна представлять антигены Т-клеткам. С представления антигенов аллергена В-клеткам Т-клеткам и начинается аллергическая реакция.

### Эффекторы аллергических реакций

Для понимания иммунологических механизмов запуска патологического процесса при аллергии необходимо коротко остановиться на основных типах клеток, принимающих участие в патогенезе аллергии, и осуществляемых ими реакциях. Основными участниками аллергического ответа являются В-клетки и CD4<sup>+</sup> Т клетки-хелперы 2-го типа (Тх2). Патогенная роль В-клеток связана не только с представлением аллергенов Т-клеткам, но и с продукцией IgG и IgE. Патогенная роль Т-клеток сводится к активации В-клеток и продукции провоспалительных цитокинов.

### Клеточный иммунный ответ на аллергены

При выборе типа иммунного ответа определяющим является наличие и количество лигандов в составе патогена, антигена, аллергена, которые распознаются системой TLR и молекул-посредников. Высокая концентрация таких лигандов быстро активирует АПК, что в результате приводит к прекращению фагоцитоза, миграции таких активированных клеток в ближайший лимфатический узел, презентации переваренных антигенов на поверхности клетки и секреции IL-12. Именно высокий уровень продукции IL-12 АПК способствует дифференцировке Т-клеток в Тх1. Низкий уровень сигнала через TLR-систему не воспринимается фагоцитами, и клетки остаются в тканях в качестве резидентных фагоцитов.

### Гуморальный иммунный ответ на аллергены

В процессе формирования иммунного ответа Т-хелперные клетки секретируют определенный набор цитокинов, который и определяет тип основного иммуноглобулина, который будут

сформировать В-клетки (табл. 13). При ответе на аллергены только у генетически предрасположенных людей формируется ответ. У всех остальных на аллергены формируется низкий уровень IgG1-антител, не ассоциированных с клиническими проявлениями аллергии.

Таблица 12

Характеристики иммунного ответа на патогены и аллергены

Иммунный ответ	Ответ на патогены	Ответ на аллергены
АПК	Дендритные клетки, макрофаги	В-клетки
Тип Т-хелперов	Тх1	Тх2, Тх17
Цитокины	IFN-γ	IL-4
Тип Т-эффекторов	CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>
Имуноглобулины	IgG1, IgG2, IgG3	IgG1, IgG4, IgE

Таблица 13

Характеристики иммунного ответа на Af и аллергены

Иммунный ответ	Ответ на Af	Ответ на аллергены
АПК	Дендритные клетки, макрофаги	В-клетки
Тип ответа	Врожденный иммунитет	Адаптивный иммунитет
Тип Т-хелперов	Тх1	Тх2, Тх17
Цитокины	IFN-γ	IL-4
Тип Т-эффекторов	CD4 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>
Имуноглобулины	IgG1, IgG2, IgG3	IgG1, IgG4, IgE

### Особенности аллергической реакции на грибы рода *Aspergillus*

Аллергическая реакция на грибы рода *Aspergillus* имеет особенности по сравнению с реакцией на пищевые, бытовые и пылевые аллергены. Это связано, во-первых, с тем, что в состав грибов входит галактоманнан, являющийся лигандом TLR4, а также β-глюкан, распознаваемый дектином-1. Во-вторых, грибы имеют механизмы инвазии, позволяющие им задерживаться на поверхности легочного эпителия, а затем и проходить внутрь клеток. В-третьих, грибы являются патогенами, способными прорасти в легких, что значительно увеличивает антигенную нагрузку на иммунную систему. Активация иммунитета через систему PRRs вызывает формирование Тх1, что верно и для ответа на Af (табл. 14). Механизм формирования аллергического