

Факторы резистентности и иммунитет при глубоких микозах

А. Ю. Сергеев, Ю. В. Сергеев

Московская медицинская академия имени И. М. Сеченова

Институт аллергологии и клинической иммунологии, Москва

Host Resistance and Immunity in Deep Fungal Infections

A. Y. Sergeev, Y. V. Sergeev

I. M. Sechenov Moscow Medical Academy

Institute of Allergology and Clinical Immunology, Moscow

Аннотация

Статья представляет лекцию по иммунологическим аспектам патогенеза аспергиллеза, криптококкоза и группы эндемических микозов. Развитие оппортунистических микозов практически невозможно без фонового иммунодефицитного состояния. Инвазивный аспергиллез развивается на фоне нейтропении как следствие неэффективного фагоцитоза. Однако и до взаимодействия с фагоцитами–нейтрофилами грибам–возбудителям приходится преодолевать систему барьеров в дыхательных путях, включая мукоцилиарный клиренс, секретируемые защитные молекулы и активность альвеолярных макрофагов. Криптококкоз и эндемические микозы относятся к СПИД–ассоциированным микозам. Их возбудители располагают разными факторами агрессии, допускающими модуляцию иммунного ответа и преодоление резистентности макроорганизма.

Ключевые слова

Иммунитет, глубокие микозы, патогенез, аспергиллез, криптококкоз, кокцидиомикоз, гистоплазмоз.

Глубокие, или инвазивные микозы являются одними из наиболее типичных оппортунистических инфекций человека. Развиваясь на фоне того или иного иммунодефицитного состояния, будь то СПИД или ятрогенная нейтропения, они и сегодня, при наличии современного арсенала антимикотиков, трудно поддаются лечению. В настоящей лекции мы рассматриваем иммунологические аспекты патогенеза инвазивного аспергиллеза, как наиболее распространенного и типичного плесневого оппортунистического микоза, криптококкоза и группы эндемических микозов, обусловленных диморфными грибами. Особенности иммунитета при кандидозе были изложены нами в одном из предыдущих номеров журнала.

Summary

Host–fungus interactions and immunological response in invasive fungal infections: aspergillosis, cryptococcosis and select dimorphic mycoses are reviewed in this lecture. Immunological deficiency is a major factor predisposing to opportunistic mycoses. Invasive aspergillosis develops during neutropenia, resulting from ineffective phagocytosis. Before getting in contact with neutrophils, respiratory fungal pathogens have to overcome the barriers of respiratory system. Among them the principal are: mucociliary clearance, secreted defensive molecules and alveolar macrophages. Cryptococcosis and endemic respiratory mycoses are usually grouped as AIDS–related infections. Their agents possess several aggressive factors making possible modulation of host immune response and resistance to other defensive traits.

Keywords

Host–parasite relationship, immunity, pathogenesis, aspergillosis, cryptococcosis, coccidiomycosis, histoplasmosis.

Аспергиллез

Заболевание, как правило, начинается с попадания конидий *Aspergillus spp.* в дыхательные пути. Малый (менее 5 мкм) размер и особенности строения позволяют конидиям проникать в нижние отделы дыхательных путей, минуя мукоцилиарный защитный барьер. Этот барьер является первым на пути проникновения *Aspergillus* в дыхательные пути и отчасти не зависимым от состояния иммунной системы. Его функция обеспечивается целостностью эпителиальных клеток и межклеточных связей, а также выработкой слизи секреторными клетками. В слизи содержатся многие защитные факторы, такие, как дефензины, антилейкопротеазы, различные опсонизирующие вещества (табл. 1).

Помимо представленных, к гуморальным защитным факторам — опсонинам — следует отнести и компоненты иммунной системы — секреторные иммуноглобулины класса А (S-IgA) и комплемент (C3). Клетки *A. fumigatus* активируют систему комплемента преимущественно по альтернативному пути, что приводит к опсонизации возбудителя факторами C3b и C3bi, а также к усилению хемотаксиса лейкоцитов (фактор C5a). Конидии *A. fumigatus* не вызывают выраженного антителообразования и поэтому довольно слабо активируют систему комплемента по классическому пути. Кроме того, *in vitro* *A. fumigatus* и *A. flavus*, по-видимому, вырабатывают какой-то ингибитор альтернативного пути комплемента.

Секреторный IgA также препятствует адгезии конидиев и способствует фагоцитозу и уничтожению клеток гриба лейкоцитами. В бронхоальвеолярных смывах обнаруживают S-IgA, причем его содержание повышается у больных АБЛА.

Зная о механизмах действия естественных факторов слизи, становится понятно, что они препятствуют развитию аспергиллеза на самой ранней стадии — адгезии клеток гриба к эпителию. За счет этого осуществляется защита не только от развития инвазивной инфекции, но и колонизации. Поэтому ряд заболеваний, нарушающих мукоцилиарную систему дыхательных путей, предрасполагает к развитию хронических форм аспергиллеза легких даже без существенного снижения иммунитета. К числу таких заболеваний можно отнести, например, хронические обструктивные болезни легких, тяжелую бронхиальную астму и редкие заболевания: цилиарную дискинезию, кистозный фиброз.

Основным звеном защиты легких от инвазивной инфекции является фагоцитоз, осуществляемый, прежде всего, альвеолярными макрофагами. Эти клетки традиционно рассматриваются как первые стражи легких, встречающие клетки возбудителя уже на границе эпителиальной стенки. Макрофаги уничтожают конидии *Aspergillus*, препятствуя их прорастанию. Распознавание грибковых клеток осу-

ществляется даже без участия опсонин, за счет связывания с определенными поверхностными молекулами, например маннанами.

Проросшие гифы *Aspergillus* уничтожаются труднее, хотя бы из-за больших, чем конидии, размеров. Уничтожение гиф осуществляется не их полным поглощением, а простой адгезией моноцитов или нейтрофилов с последующим высвобождением окислительных метаболитов или катионных белков. В целом, считается, что конидии относительно устойчивы к действию окислительных механизмов и чувствительны к неокислительным. Врожденные иммунодефициты, связанные с отсутствием некоторых из этих микробицидных механизмов, также предрасполагают к инвазивному аспергиллезу.

Прорастание гиф с выделением протеиназ и разрушением эпителиальной оболочки и внедрение в ткань легкого должно быть остановлено следующей линией фагоцитарной защиты — нейтрофилами и моноцитами/макрофагами. Моноциты и макрофаги, устремляющиеся в очаг инфекции, образуют ряд цитокинов (IL-1, IFNg, TNFa), в свою очередь стимулирующие разные клетки легких к образованию других цитокинов (IL-8, RANTES, GM-CSF), что приводит к усилению миграции фагоцитов. В настоящее время считают, что выделение эпителиоцитами подобных цитокинов представляет сигнал для фагоцитов, поступающий из поврежденной протеиназами гриба слизистой оболочки.

Повреждение эпителия и ткани (в том числе в начале инфекции) стимулирует репаративные процессы в легких, что дает новые перспективы для адгезии клеток *Aspergillus* к разным молекулам соединительной ткани и в конечном счете — для более глубокого проникновения. Это еще одна причина, связывающая различные заболевания легких с развитием той или иной формы легочного аспергиллеза.

У лиц без атопической предрасположенности контакт с антигенами *Aspergillus* приводит к развитию иммунных реакций Th1 типа, приводящих к стимуляции фагоцитоза и уничтожения клеток гриба, образованию

Таблица 1
Защитные и противогрибковые факторы дыхательных путей

Защитные факторы	Значение при аспергиллезе и микозах легких
b-дефензины	Микробицидные факторы, образуются клетками эпителия
Трахеальный противомикробный пептид (TAP)	Микробицидный фактор
Антилейкопротеаза (LAP)	Подавляет сериновые протеиназы (в т. ч. <i>Aspergillus</i>), фунгицидное действие в отношении активных гиф
S-лектины и гликопротеины, коллектины, сурфактанты А и D, маннозосвязывающий белок	Опсонизируют клетки грибов, связываясь с некоторыми поверхностными молекулами, за счет чего препятствуют адгезии к эпителию

лами и макрофагами, чем бескапсульные штаммы. Этому может способствовать отрицательный заряд поверхности клетки, создаваемый капсулой. Предполагается, что толстый слой капсулы препятствует адекватному представлению антигенов возбудителя. Антиген-представляющие клетки выделяют значительно меньшее количество ИЛ-1 при контакте с хорошо инкапсулированными штаммами. Кроме того, наличие капсулы отрицательно влияет на образование ряда цитокинов, в том числе TNF α и ИЛ-6 макрофагами. В то же время образование цитокинов Th2 профиля, в частности ИЛ-10, усиливается. Таким образом, капсула выступает и как иммуномодулирующий фактор, препятствующий развитию эффективного Th1 иммунного ответа.

В качестве факторов патогенности рассматривают также разные вещества, производимые возбудителем и циркулирующие в крови больных. Это, как правило, полисахариды из оболочки, например глюконооксиманнан капсулы или маннопротеины, являющиеся антигенами *C. neoformans*. Антигенемия и способность к массовому высвобождению подобных веществ рассматривается как фактор, снижающий резистентность макроорганизма или ассоциированный с более тяжелым течением инфекции и худшим прогнозом.

В частности, показано, что циркулирующие антигены *C. neoformans* подавляют миграцию лейкоцитов, снижая степень инфильтрации в очаге воспаления и участие фагоцитов в реакциях замедленной гиперчувствительности. В то же время отношение высокой антигенемии к слабой воспалительной реакции при диссеминированном криптококкозе может представлять не причину, а следствие. В числе конкретных механизмов, которые могут вызывать ослабление лейкоцитарной реактивности, называют связь глюконооксиманнана с L-селектином, поверхностной молекулой нейтрофилов, необходимой для их миграции через стенку сосудов. Кроме того, полисахариды оболочки *C. neoformans* могут связываться с рецептором адгезии LFA-1 (CD18), что препятствует его взаимодействию с лигандом ICAM-1. Помимо взаимодействия с факторами резистентности, предположено, что полисахаридные антигены и продукты жизнедеятельности (например, маннит) *C. neoformans* могут изменять осмотические условия жидких сред организма, в частности ликвора, что приводит к повышению внутричерепного давления и отеку мозга. Кроме того, образование маннита, по-видимому, защищает клетки возбудителя от действия продуктов перекисного окисления.

В качестве одного из главных факторов патогенности *C. neoformans* в настоящее время рассматривается способность к образованию меланина. Эта способность связана с фенолоксидазной активностью, то есть наличием ферментов, позволяющих синтезировать меланиноподобные вещества из ДОПА и других субстратов с дигидроксифенолом. Такими субстратами, в частности, богат головной мозг. Значение меланинов как факторов патогенности предполагается в обеспечиваемой ими повышенной устойчивости к действию фагоцитарных перекисных радикалов и вообще окис-

лителей. Таким образом, за счет использования катехоламинов макроорганизма и меланизации своей оболочки клетка *C. neoformans* сопротивляется окислительному повреждению продуктами кислорода и оксида азота. В настоящее время клонирован ген *CNLAC1*, кодирующий фермент дифенолоксидазу *C. neoformans* с массой 75 кДа. Удаление этого гена приводит к утрате вирулентности. Транскрипты данного гена с помощью РТ-ПЦР обнаруживают и в ликворе зараженных лабораторных животных.

Другие из предполагаемых механизмов патогенности, реализуемых за счет меланинов, заключаются в препятствиях опсонизации клетки возбудителя антителами, распознаванию антигенов и ослаблении точного иммунного ответа.

В последнее время открыты простагландины *C. neoformans*, представляющиеся необходимыми для роста возбудителя. Эндогенные простагландины *C. neoformans* могут оказывать действие, аналогичное простагландинам макроорганизма, то есть проявлять свойства иммуномодулятора, препятствуя воспалительной реакции.

Кокцидиоидоз

Клеточный иммунный ответ — основное звено противостояния кокцидиоидной инфекции и невосприимчивости к повторному заражению. Гуморальный иммунитет большой роли в защите макроорганизма не играет. Антитела классов IgM и IgG появляются уже в начале инфекции, но не защищают от ее прогрессирования и диссеминации. Без стимуляции со стороны лимфоцитов макрофаги и естественные киллеры могут препятствовать трансформации артроконидиев, развитию эндоспор и юных сферул, но с созревающими сферулами они уже не могут справиться. Выраженный пролиферативный ответ CD4+ Т лимфоцитов ассоциируется с излечением и ремиссией, в то время как наличие антител к антигену *Coccidioides immitis* с массой 33 кДа — с прогрессированием инфекции.

В настоящее время выделены гены *C. immitis*, кодирующие экспрессию белков, являющихся антигенами, которые распознают Т лимфоциты человека (в частности, белок с массой 45 кДа). Белки теплового шока *C. immitis* также являются Т-специфичными антигенами. Антигенный стимул (антигенами *C. immitis*) у здоровых лиц приводит к бласттрансформации лимфоцитов и выработке ИЛ-12 и IFN γ . У лиц с диссеминированным кокцидиоидозом эти реакции не происходят или значительно ослаблены. Таким образом, эффективный иммунный ответ при кокцидиоидозе характеризуется как клеточный и протекающий по Th1 профилю.

У лиц, перенесших первичный кокцидиоидоз, развивается стойкий иммунитет к экзогенной реинфекции. Хронический кокцидиоидоз легких развивается редко, примерно у 3–5% инфицированных. Он может встречаться как у пациентов с иммунодефицитом, так и у иммунокомпетентных лиц. При гематогенной диссеминации эндоспор *C. immitis* из легких чаще поражается кожа, кости и суставы, оболочки головного

мозга, а также в селезенку, печень, почки, надпочечники, сердце. Диссеминация, как правило, происходит вторично, через долгое время после перенесенной первичной инфекции. Она является следствием реактивации зажившего очага. Это происходит у ранее инфицированных, в последствии заболевших СПИД, или подвергнувшихся иммуносупрессии другого происхождения. В то же время не исключается и развитие первичной быстро прогрессирующей инфекции как варианта течения кокцидиоидоза при СПИД.

Гистоплазмоз

Конидии *Histoplasma capsulatum* и мелкие фрагменты мицелия, минуя дыхательные пути, попадают в дистальные отделы легких, где через 2–3 дня прорастают в дрожжевые клетки тканевой формы. Считается, что микроконидии как инфекционные частицы более вирулентны за счет сравнительно малых, по сравнению с макроконидиями, размеров. В легких клетки возбудителя вступают в контакт с альвеолярными макрофагами, нейтрофилами и NK клетками. Клеточный иммунитет, у здоровых лиц останавливающий дальнейшее развитие инфекции, развивается в течение 2–3 нед. Однако еще до развития клеточного иммунитета макрофаги, поглотившие клетки возбудителя, распространяют их, перемещаясь по кровеносным и лимфатическим сосудам.

Возбудитель гистоплазмоза характеризуется как внутриклеточный патогенный микроорганизм, а заболевание — как типичная Т-клеточная оппортунистическая инфекция. Взаимодействие возбудителя с макрофагами и иммунокомпетентными клетками начинается с адгезии. Клетки *H. capsulatum* прикрепляются к фагоцитам, взаимодействуя с рецептором CD11/CD18. Интенсивность адгезии при этом определяет скорость фагоцитоза. Лизис фагоцитированных и свободных клеток возбудителя осуществляется с помощью окислительных механизмов. Фунгицидная активность макрофагов осуществляется под действием IFN γ и TNF α . Наиболее вероятным механизмом данного влияния считается усиленное образование оксида азота (NO), связывающего жизненно необходимые возбудителю ионы железа. Другими цитокинами, способствующими подавлению внутриклеточных форм возбудителя, являются IL-3 и GM-CSF. Фагоциты, в частности, нейтрофилы, в борьбе с клетками *H. capsulatum* используют и неокислительные механизмы, в частности, белки-дефензины и содержащее азурофильных гранул.

В Т-лимфоцитарном обеспечении иммунного ответа при гистоплазмозе участвуют клетки CD4+, и CD8+ популяций. Основным в развитии первичного иммунного ответа является участие сенсibilизированных CD4+ лимфоцитов, причем особая роль отводится линии Vb4+. При реинфекции лабораторных животных иммунологическая защита может быть обеспечена как CD4+, так и CD8+ клетками. Основными цитокинами Т-лимфоцитов, обеспечивающими эффективный фагоцитоз и уничтожение возбудителя, признаются IFN γ и TNF α .

Цитокиновый профиль иммунорегуляторных лимфоцитов при гистоплазмозе характеризуется как Th1. На ранних стадиях инфекции в числе образующих лимфокинов преобладают IL-12 и TNF α , позднее IFN γ . При повторной инфекции основными цитокинами являются TNF α и GM-CSF, поскольку их участие обеспечивает эффективную защиту даже в отсутствие IFN γ .

В целом иммунитет при гистоплазмозе можно охарактеризовать как клеточный, нестерильный. Иммунный ответ не приводит к полной элиминации возбудителя. У лиц, переболевших гистоплазмозом, возможны реинфекции и реактивации заболевания из сохраняющегося очага в легком.

Гуморальный иммунитет не защищает от развития инфекции. Высокие титры антител отмечаются на фоне неэффективного клеточного иммунитета и прогрессирования заболевания. В отношении участия антител в иммунном ответе с одной стороны, указывают на эффект опсонизации и реакции антителозависимой цитотоксичности, а с другой — на возможное образование блокирующих антител, закрывающих нужные рецепторы на поверхности возбудителя.

Бластомикоз

Патогенез бластомикоза и гистоплазмоза имеет много общего. Защита макроорганизма при бластомикозе основывается на реакциях клеточного иммунитета. Большинство конидиев возбудителя поглощается и уничтожается нейтрофилами. Кроме того, альвеолярные макрофаги препятствуют переходу конидиев в дрожжевую фазу. Клетки дрожжевой фазы, по-видимому, более успешно противостоят окислительным и неокислительным механизмам фагоцитоза и не поглощаются нейтрофилами. Дрожжевая фаза *B. dermatitidis* содержит больше хитина и более 90% α -глюкана клеточной стенки, в то время, как плесневая — меньше хитина и около 60% α -глюкана. И хитин, и α -глюканы клеточной стенки рассматриваются как факторы патогенности. В частности, установлена связь между вирулентностью штаммов *B. dermatitidis* и содержанием α -1,3-глюкана клеточной стенки. Роль α -1,3-глюкана в патогенезе инфекции не установлена, однако представляется вероятным, что эти молекулы маскируют антигены *B. dermatitidis* (в частности, антиген WI-1) от факторов резистентности макроорганизма. Значение придается и фосфолипидной фракции клеточной стенки, играющей роль эндотоксина.

Главным фактором патогенности *B. dermatitidis*, участвующим в адгезии (адгезин/инвазин) и основным антигеном, вызывающим клеточные и гуморальные реакции, в настоящее время признается антиген WI-1. Это белок клеточной стенки с массой 120 кДа. Он образуется только в дрожжевой фазе, что четко прослеживается при конверсии фаз. С помощью антигена WI-1 возбудитель связывается с макрофагами, а опсонизация блокирующими антителами к WI-1 препятствует адгезии. Клеточными рецепторами для антигена WI-1 являются CR-3 (CD11b/CD18) и CD14. Пред-

полагается, что возбудитель способен регулировать экспрессию антигена WI-1 на своей поверхности, при необходимости наращивая его содержимое или, наоборот, избавляясь от него, или экранируя этот антиген другими молекулами. Это позволяет возбудителю проникать в ткани макроорганизма и при этом избегать уничтожения. У африканских штаммов *B. dermatitidis* отсутствуют некоторые антигены классического американского возбудителя, в частности — эзоантиген А, по строению близкий к WI-1.

Без стимула со стороны лимфоцитов макрофаги поглощают, но не переваривают клетки возбудителя. Их уничтожение усиливается при действии цитокинов Th1 профиля, в частности — IFN γ . Образование антител при blastomycosis не защищает от прогрессирования инфекции.

Паракокцидиоз

Иммунный ответ при паракокцидиозе преимущественно клеточный, Th1 профиля. Антителообразование не защищает от развития инфекции. Высокие титры антител могут отмечаться и на фоне прогрессирования заболевания. Восприимчивость к инфекции ассоциируется с реакциями Th2 профиля и малоэффективной активацией макрофагов лимфоцитами. Вырабатываются антитела преимущественно IgG_{2b} подтипа. При поликлональной активации В лимфоцитов на фоне прогрессирующей инфекции образуются антитела также IgG₁ и IgG_{2a} подтипов. Устойчивость к инфекции ассоциируется, прежде всего, с выраженной гиперчувствительностью замедленного типа и образованием антител преимущественно IgG_{2a} подтипа. Цитокиновый профиль при паракокцидиозе мало изучен. Как и при других микозах, обусловленных диморфными грибами, в иммунопатогенезе паракокцидиоза играют роль глюканы клеточной стенки. Помимо влияния а-1,3-глюкана, b-глюкан рассматривается как молекула, оказывающая влияние на реакции макроорганизма. Его содержание и особенности распределения в клеточной стенке определяют интенсивность воспалительного инфильтрата и образование ряда цитокинов, в частности TNF α .

Молекулой, которую с наибольшей уверенностью причисляют к факторам патогенности *P. brasiliensis*, является белок gr43, обнаруживаемый на поверхности оболочки возбудителя и вне клетки и, по-видимому, обладающий протеиназной активностью. Он яв-

ляется одним из главных антигенов возбудителя и распознается антителами сыворотки всех больных паракокцидиозом. В патогенезе инфекции белок gr43 может участвовать как адгезин, поскольку он связывается с ламинином. Наличие одновременно внеклеточной и поверхностной фракций белка gr43 рассматривается как своеобразная уловка возбудителя. Секрция белка может связывать антителоопсонины, отвлекая их от поверхностных молекул белка, чтобы не препятствовать адгезии.

Значительное внимание уделяется также эстрогенсвязывающим белкам и взаимодействию со стероидными гормонами. Известно, что заболеваемость и инфицированность при паракокцидиозе у мужчин на 1–2 порядка выше, чем у женщин. Это склонно связывать с особым взаимодействием между клетками возбудителя и половыми гормонами. Показано, что 17b-эстрадиол подавляет переход *P. brasiliensis* из плесневой фазы в дрожжевую, а также трансформацию конидиев в клетки дрожжевой фазы. В цитоплазме *P. brasiliensis* обнаружены разные белки, как с высоким, так и с малым сродством к 17b-эстрадиолу. Одним из механизмов этого влияния может быть подавление белкового синтеза, в частности — усваивания метионина клеткой гриба. Конкретные гормоны в организме человека, которые могут подавлять отдельные эпизоды жизнедеятельности гриба, в настоящее время неизвестны.

Мы не будем рассматривать иммунологические аспекты патогенеза подкожных и более редких глубоких микозов, поскольку они в целом мало изучены. Имеющиеся данные по иммунопатогенезу аспергиллеза в общем позволяют распространить наши представления о нем и на течение других плесневых микозов. Различия в организации иммунологической защиты при аспергиллезе и «классических» эндемических микозах, вызванных диморфными возбудителями, представляются очевидными. Условия развития этих микозов позволяют отнести аспергиллез, мукороз и другие инвазивные плесневые инфекции, а также многие случаи глубокого кандидоза к группе нейтропении, тем самым определяя главную группу их риска (пациенты, получающие химиотерапию). Криптококкоз и респираторные микозы, обусловленные диморфными грибами, входят в группу СПИД-ассоциированных микозов. Это определяет организацию и методы диагностики, терапии и профилактики глубоких грибковых инфекций человека.