

МОЛЕКУЛЯРНО–ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА

О.В. Шадривова, Е.В. Фролова, А.Е. Тараскина, Н.Н. Климко
Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

Molecular genetic and immunological aspects of invasive aspergillosis

O.V. Shadrivova, E.V. Frolova, A.E. Taraskina, N.N. Klimko
North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Грибы рода *Aspergillus* чрезвычайно широко распространены в природе. Ежедневно люди вдыхают до нескольких тысяч спор микромицетов, однако эффективный иммунный ответ предотвращает развитие заболевания. При нарушении механизмов врожденного и адаптивного иммунного ответа в результате генетических дефектов или ятрогенной иммуносупрессии *Aspergillus spp.* становятся патогенными и способны вызывать тяжелые инвазивные инфекции у иммуноскомпрометированных больных. Тем не менее, в настоящее время не существует надежных биомаркеров, позволяющих прогнозировать риск развития инвазивного аспергиллеза. В обзоре представлены наиболее важные генетические и иммунологические факторы, влияющие на восприимчивость к *Aspergillus spp.* Знание этих факторов может обеспечить индивидуальный подход к противогрибковой профилактике и терапии у иммуноскомпрометированных пациентов.

Ключевые слова: иммунный ответ, *Aspergillus spp.*, генетическая предрасположенность; иммунологические биомаркеры, противогрибковая терапия.

Введение

Инвазивный аспергиллез (ИА) — это тяжелая микотическая инфекция, возникающая преимущественно у иммуноскомпрометированных больных. Частота впервые возникшего ИА в РФ составляет $\approx 2,27$ на 100 000 населения, что сопоставимо с европейскими странами [1]. На протяжении последних лет за счет усовершенствования методов диагностики и более широкого использования антифунгальной профилактики мы наблюдали постепенное снижение уровня смертности, что подтверждено целым рядом международных и отечественных исследований [2–4]. В Санкт-Петербурге общая 12-недельная выживаемость гематологических больных ИА составляет 80–85% [4]. Однако в отсутствие ранней диагностики и своевременной терапии летальность остается недопустимо высокой.

Abstract

Aspergillus is very widely spread in nature. Daily people inhale to several thousand spores of micromycetes, however, an effective immune response prevents to development of the disease. In case of violation the mechanisms of innate and adaptive immune response as a result of genetic defects or iatrogenic immunosuppression *Aspergillus spp.* become pathogenic and can cause severe invasive infections in immunocompromised patients. Until now there are no reliable biomarkers for the risk prediction of invasive aspergillosis and monitoring the effectiveness of treatment of infectious process. In our review, we are considering the most important genetic and immunological factors affecting susceptibility to *Aspergillus spp.*, The analysis of which can provide an individual approach to antifungal therapy / prevention in immunocompromised patients.

Key words: immune response, *Aspergillus spp.*, genetic predisposition, immunologic biomarkers, antifungal therapy.

Известными факторами риска развития ИА являются нейтропения $< 0,5 \times 10^9 / \text{л}$ более 10 дней в период диагностики или в предыдущие 60 дней; реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) у реципиентов аллогенных трансплантатов гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК); длительное (более 3 недель) использование глюкокортикостероидов (ГКС) в дозе более 0,3 мг/кг/сут; недавнее или текущее использование иммуносупрессивных препаратов (таких как циклоспорин, такролимус и т.д.); синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), а также первичные иммунодефициты (хроническая гранулематозная болезнь, гипер-IgE-синдром и др.) [5–8]. По данным современных международных исследований, наиболее высокий риск возникновения ИА отмечали у больных острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) (10–41%) и реципиентов алло-ТГСК (9%) [9–11].

Несмотря на то, что основные факторы риска развития инвазивных грибковых инфекций известны, эти риски не являются абсолютными: ИА развивается лишь у части этих пациентов. Это свидетельствует о существовании еще не исследованных фоновых состояний, которые влияют на восприимчивость человека к *Aspergillus spp.* В связи с этим актуален поиск новых индивидуальных прогностических подходов, особенно генетических, которые могут быть использованы для выявления наиболее уязвимых к инфекции групп пациентов.

Известными иммунологическими биомаркерами для прогнозирования инфекционных осложнений и клинических исходов являются количество CD4+ Т-клеток у ВИЧ-инфицированных лиц [12] и показатели специфического клеточного иммунитета к цитомегаловирусу у реципиентов солидных органов [13]. Обнадеживающий прогресс достигнут в идентификации генетических факторов, причастных к развитию ИА у гематологических пациентов, в том числе у реципиентов алло-ТГСК [14]. Аллельные варианты генов, кодирующих паттерн-распознающие рецепторы (PRRs), цитокины, хемокины и их рецепторы, могут влиять на формирование иммунного ответа к грибковым патогенам. В основе большинства генетических изменений, приводящих к изменению функциональности гена, лежат точечные нуклеотидные изменения в ДНК – однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) (от англ. SNP – single nucleotide polymorphism). В настоящее время известны 43 ОНП, ассоциированных с риском развития, тяжестью течения и прогнозом инфекционного процесса, вызванного *Aspergillus spp.* [15]. Однако малый размер выборки, неоднородность критериев отбора больных и статистических подходов являются общими недостатками для исследований, посвященных изучению генетических особенностей больных ИА [16]. Таким образом, данные по генетической предрасположенности к ИА следует интерпретировать с осторожностью, учитывая их корреляцию с нарушениями функциональной активности клеток иммунной системы.

Факторы врожденного иммунного ответа, связанные с предрасположенностью к инвазивному аспергиллезу

У иммунокомпетентных лиц эффективный иммунный ответ предотвращает инвазию и рост грибов *Aspergillus*, попавших в респираторный тракт. Ключевым звеном патогенеза грибковых инфекций являются нарушения в работе иммунной системы, приводящие к дисбалансу провоспалительного и противовоспалительного ответа.

Распознавание конидий *Aspergillus spp.* осуществляют клетки врожденного иммунитета (бронхиальные эпителиоциты, альвеолярные

макрофаги, дендритные клетки и др.). Макрофаги разрушают проникшие в альвеолы конидии *Aspergillus spp.*, в то время как нейтрофилы уничтожают проросшие из уцелевших конидий гифы. Так как гифы имеют слишком большой размер, чтобы быть поглощенными нейтрофилами, последние выработали целый ряд внеклеточных механизмов уничтожения, в том числе образование внеклеточных ловушек, которые предотвращают дальнейшее распространение грибов [17, 18].

Антиген-представляющие клетки (АПК) распознают лиганды грибов рода *Aspergillus* с помощью PRRs, осуществляют фагоцитоз и представление грибковых антигенов лимфоцитам и инициируют специфический клеточный иммунный ответ [17]. К секретлируемым PRRs относится пентраксин 3 (РТХ3), связывающий лиганды *Aspergillus spp.*, такие как галактоманнан и зимозан. РТХ3 является острофазным белком (ОФБ), уровень которого в плазме возрастает при воспалении и различных инфекциях. Особенностью РТХ3 по сравнению с другими ОФБ является то, что он синтезируется нейтрофилами локально в воспалительном очаге, хранится в гранулах и быстро высвобождается в ответ на воспалительные сигналы. После высвобождения РТХ3 локализуется в нейтрофильных внеклеточных ловушках, где он выступает в качестве опсонина и участвует в активации системы комплемента, способствуя фагоцитозу и уничтожению гиф грибов [18, 19].

Известно, что гомозиготный гаплотип (h2/h2: +281GG/+734AA) гена РТХ3 ассоциирован с низким уровнем данного ОФБ в бронхоальвеолярном лаваже и биоптатах легочной ткани. В связи с этим реципиенты алло-ТГСК от доноров с указанным гаплотипом имеют повышенный риск возникновения ИА вследствие нарушения фагоцитоза и киллинга грибов [20]. Дефицит РТХ3 в h2/h2 нейтрофилах предположительно возникает из-за нарушения стабильности матричной РНК (мРНК) предшественника белка, что приводит к снижению трансляции РТХ3.

Мониторинг плазменного РТХ3 в педиатрической когорте пациентов с острым лейкозом выявил значительное повышение его концентрации у больных ИА, а эффективный ответ на антифунгальную терапию коррелировал с нормализацией значений РТХ3 [21]. Однако в работе J.F. Samargo et al. не установлено различий в уровнях РТХ3 у гематологических больных с ИА и без микотической инфекции [22]. Таким образом, РТХ3 не является высокоспецифичным биомаркером аспергиллезной инфекции, но может рассматриваться как потенциальное средство для иммунотерапии.

К PRRs также относятся связанные с мембраной дектин-1 и Toll-подобные рецепторы (TLRs), которые запускают внутриклеточные сигнальные

пути, индуцируя синтез в АПК микробицидных факторов, антимикробных пептидов и цитокинов [17, 18].

Известно, что для инициации противогрибкового иммунного ответа необходимо связывание дектина-1, который представлен на поверхности нейтрофилов и бронхиальных эпителиальных клеток, с β -глюканом грибковой стенки [23]. В эксперименте после интратрахеального заражения мышей грибами дефицит экспрессии дектина-1 приводил к нарушению продукции провоспалительных цитокинов, хемотаксиса и активации нейтрофилов, что приводило к неконтролируемому инвазивному росту *A. fumigatus* [24].

Аллельные варианты гена *CLEC7A*, кодирующего дектин-1, рассматривают как потенциальные предиктивные факторы риска развития грибковых инфекций [25, 26]. Наиболее изучена замена тимина на гуанин в 714 позиции (rs16910526), приводящая к формированию раннего стоп кодона (Y238X) и биосинтезу неполноценного белка дектина-1, неспособного встроиться в мембрану иммунных клеток. Тем самым нарушается связывание АПК с β -глюканами клеточной стенки гриба и продукция интерлейкина (ИЛ)-17, необходимого для формирования эффективной противогрибковой защиты. Два других ОНП интронов гена *CLEC7A* (rs3901533, rs7309123) также коррелировали с развитием ИА у гематологических пациентов, хотя влияние этих генетических нарушений на функцию клеток иммунной системы еще не изучено [26].

Дендритные клетки (ДК) распознают фрагменты клеточной стенки грибов посредством TLRs и способны различать грибковые морфотипы. Установлено, что конидии *Aspergillus spp.* распознают TLR-4 типа, а гифы — TLR-2, что индуцирует созревание ДК и определяет дифференцировку наивных Т-клеток в различные эффекторные подтипы Т-хелперов (Тх). Дефекты TLR2, TLR4 и сигнальных внутриклеточных молекул приводят к нарушению механизмов активации адаптивного иммунного ответа [14]. Аллельный вариант гена TLR4 повышает риск возникновения ИА у иммуносупрессированных пациентов [27]. Установлен синергизм между дектином-1 и TLR2 во взаимодействии с грибковыми патогенами. В недавнем исследовании изучали влияние трех различных ОНП гена *CLEC7A* и одного гена TLR2 на восприимчивость к инвазивным грибковым инфекциям у 186 взрослых больных ОМЛ. Пациенты — носители ОНП гена *CLEC7A* (rs7309123) или TLR2 (rs5743708) имели повышенный риск развития инвазивных микозов [28]. Была предпринята попытка установить взаимосвязь генетических изменений с нарушениями в иммунных клетках. Выявлено снижение уровней мРНК *CLEC7A* и экс-

прессии дектина-1 на мембране мононуклеарных клеток периферической крови (PVMCs) больных в период иммуносупрессии. Учитывая противоречивость полученных результатов, авторами было сделано заключение о необходимости дальнейших исследований влияния ОНП в генах PRRs на функциональную активность клеток врожденного иммунного ответа для подтверждения значимости этих изменений как маркеров развития ИА.

Факторы адаптивного иммунного ответа, связанные с предрасположенностью к инвазивному аспергиллезу

Известно, что клеточный иммунный ответ играет основную роль в защите от грибковых инфекций [17, 18]. Среди пула Т-клеток, которые участвуют в иммунной защите против грибов рода *Aspergillus*, Тх1 и Тх17 являются наиболее значимыми. ДК после поглощения антигенов *Aspergillus spp.* мигрируют в локальные лимфатические узлы, где представляют грибковые пептиды наивным CD4+ Т-клеткам (Тх0). Дифференцировка последних в Тх1 и Тх17 определяется цитокинами и в значительной степени зависит от типа PRRs, участвующего в распознавании *Aspergillus spp.* Распознавание грибов с помощью TLRs индуцирует продукцию ИЛ-12 и поддерживает дифференцировку Тх1, в то время как распознавание посредством дектина-1 приводит к созреванию Тх17 [29].

Кроме ИЛ-12, цитокины ИЛ-18 и ИЛ-15 отвечают за созревание и поддержание пролиферативной активности Тх1 [30]. В работе С.В. Lupiáñez et al. подтверждена роль Тх1 в защите от аспергиллезной инфекции [31]. Известно, что Тх1 продуцируют интерферон- γ (ИФН- γ), который активирует выработку макрофагами фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α). ФНО- α совместно с ИФН- γ усиливают фагоцитоз, продукцию оксида азота и супероксидных радикалов фагоцитирующими клетками. Кроме того, ИФН- γ поддерживает активность цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров [32]. При исследовании 36 ОНП генов у 781 гематологического больного установлено, что аллельные полиморфизмы генов IL4Rr (rs2107356) и IL8 (rs2227307) были связаны с повышенным риском ИА, тогда как полиморфные варианты генов IL12 (rs3212227) и IFNG (rs2069705) в значительной степени определяли снижение риска развития инфекции [31]. Кроме того, PVMCs здоровых доноров с С аллелем (rs2069705) гена IFNG сильнее вырабатывали ИФН- γ и ФНО- α и активнее уничтожали грибковые конидии по сравнению с клетками без данного однонуклетидного полиморфизма. Эти результаты косвенно подтверждают связь между генетическими нарушениями и функциональной активностью иммунных клеток.

В экспериментальных и клинических исследованиях подтверждена роль T_H17 и ИЛ-17 в защите от аспергиллезной инфекции [17, 18]. Известно, что нейтрофилы человека не экспрессируют рецепторы, связывающие ИЛ-17. Привлечение нейтрофилов в очаг инфекции и их активация происходят опосредованно, за счет секреции хемокинов и провоспалительных цитокинов активированными ИЛ-17 эпителиальными и эндотелиальными клетками [33]. Недавно было установлено, что существуют так называемые многофункциональные T_H17, которые могут продуцировать одновременно ИЛ-17, ИЛ-22, ИФН- γ и ФНО- α . ФНО- α и ИФН- γ также привлекают нейтрофилы к месту инфекции и активируют нейтрофилы/макрофаги, в то время как ИЛ-22 способствует репарации эпителиальных клеток и синтезу антимикробных пептидов [34].

Дифференцировка T_H17 также во многом зависит от цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-23, индуцирующих активацию сигнального трансдуктора и активатора транскрипции (Signal Transducers and Activators of Transcription) STAT3 [35]. ОНП гена рецептора IL23R (rs11209026), приводящий к аминокислотной замене в структуре белка R381Q, влияет на риск развития ИМ у реципиентов ТГСК [36]. Однако только у пациентов с аутосомно-доминантными мутациями гена STAT3 (гипер-IgE-синдром) установлена связь генетических изменений с функциональной активностью Т-лимфоцитов, что определяло их восприимчивость к ИА [37].

Иммунный ответ на *Aspergillus* spp. включает индукцию не только эффекторных Т-клеток, осуществляющих элиминацию патогена, но и регуляторных Т-лимфоцитов. Считается, что нарушение баланса между эффекторными и регуляторными механизмами иммунной защиты определяет неблагоприятное течение ИА [17]. Регуляторные Т-лимфоциты (Tregs) вырабатывают противовоспалительный цитокин ИЛ-10, способный подавлять эффекторные функции Т-клеток, естественных киллеров и снижать продукцию этими клетками провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-17). Также ИЛ-10 ингибирует экспрессию молекул гистосовместимости 2 класса на ДК и выработку макрофагами микробицидных факторов (оксида азота, активных форм кислорода) [38]. Наиболее изучены ОНП промоторного региона гена ИЛ-10 в позициях G-1082A (rs1800896), C-819T (rs1800871) и A-592C (rs1800872). Аллельный вариант G позиции-1082 соотносят со способностью РВМС к высокой продукции ИЛ-10, а носительство аллеля с адениловым нуклеотидом А обуславливает низкую выработку данного цитокина иммунными клетками [39]. У гематологических больных с носительством ОНП, связанного с низким уровнем синтеза ИЛ-10, отмечали более низкую частоту развития ИА [14].

Таким образом, существует ограниченное число работ, в которых наличие аллельных вариантов полиморфных генов цитокинов сопоставляется со способностью клеток к синтезу иммунных медиаторов, не оценено влияние совокупности этих факторов на риск развития ИА у гематологических пациентов.

Иммунный фенотип гематологических больных инвазивным аспергиллезом

Учитывая широкий репертуар клеток и цитокинов, участвующих в защите от грибковой инфекции, проведено изучение иммунологических особенностей течения ИА у разных групп гематологических больных. Центральное место отводили оценке числа антиген-специфических клеток и их способности к продукции цитокинов в ответ на стимуляцию клетками грибов и различными рекомбинантными антигенами. Доля циркулирующих *Aspergillus*-специфических Т-клеток у здоровых лиц колеблется в диапазоне от 0,05% до 0,4% [40]. Способность клеток крови человека к продукции различных цитокинов в ответ на антигены *Aspergillus* spp. была продемонстрирована в ряде работ *in vitro* [40,41,42]. Н. Hebart et al. изучили динамику синтеза цитокинов у гематологических больных с ИА. Для оценки антигенспецифической продукции ИФН- γ и ИЛ-10 у реципиентов ТГСК использовали иммуноферментный анализ. В исследованиях было установлено, что у здоровых людей в ответ на стимуляцию РВМС конидиями *A. fumigatus* преимущественно вырабатывается ИФН- γ . В течение срока наблюдения у пациентов с благоприятным клиническим ответом на противогрибковую терапию постепенно увеличивалась выработка ИФН- γ и снижалась продукция ИЛ-10, в отличие от больных с прогрессией ИА. Подтверждена роль клеточного иммунного ответа T_H1-типа в контроле ИА у гематологических больных. Полученные результаты позволили авторам сделать вывод о возможности использования способности лимфоцитов к антигенспецифической продукции ИФН- γ и ИЛ-10 в качестве иммунологических биомаркеров прогноза течения ИА [40].

В другой работе состоятельность специфического иммунного ответа у гематологических больных оценивали по количеству лимфоцитов, способных к синтезу ИЛ-10, ИФН- γ , ИЛ-4 и ИЛ-17А в ответ на различные рекомбинантные антигены *A. fumigatus* с помощью ELISpot анализа (Enzyme-Linked ImmunoSpot – твердофазная модификация метода иммуноферментного анализа) [41]. Для больных ИА было характерно достоверно большее количество *Aspergillus*-специфических Т-клеток, продуцирующих ИЛ-10, и меньше синтезирующих ИФН- γ по сравнению с результатами, полученными у здоровых людей. При благоприятном течении

ИА имелась тенденция к увеличению числа антигенспецифических Т-лимфоцитов, способных к продукции ИФН- γ . Дополнительные исследования показали, что клетки крови больных ИА в ответ на антигенную стимуляцию дифференцировались в цитотоксические Т-лимфоциты, которые вырабатывали ИФН- γ и разрушали гифы грибов *in vitro*, что можно было бы в дальнейшем применять в терапевтических целях.

Сходные результаты были получены при использовании проточного цитометрического многоцветного анализа для определения количества антигенспецифических лимфоцитов у гематологических больных. Клетки крови реципиентов ТГСК инкубировали с рекомбинантными антигенами грибов. Установлено, что восстановление *Aspergillus*-специфических Т-лимфоцитов с фенотипом CD4+CD154+ИФН- γ + сопровождалось регрессией аспергиллезной инфекции. Эти данные подтверждают, что специфичные для *A. fumigatus* CD4+Т-клетки необходимы для благоприятного течения ИА у реципиентов ТГСК, и адаптивная иммунотерапия имеет перспективы для использования в лечении ИА [42].

В недавнем исследовании реципиентов ТГСК установлена тенденция к снижению абсолютного числа Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов в течение 12-месячного периода наблюдения [43]. С помощью ELISpot анализа определяли количество лимфоцитов, синтезирующих цитокины в ответ на стимуляцию конидиями *A. fumigatus*. Выявлено, что количество клеток, вырабатывающих ИФН- γ и ИЛ-17, было снижено у всех гематологических пациентов по сравнению со здоровыми людьми. К концу срока наблюдения у больных ИА с благоприятным исходом выявлено восстановление числа Т-лимфоцитов, естественных киллеров и их способности к выработке ИФН- γ . Из всех исследованных иммунологических показателей только снижение абсолютного числа естественных киллеров менее $0,2 \times 10^9/\text{л}$ предлагалось в качестве иммунологического предиктора возникновения ИА у реципиентов алло-ТГСК, а восстановление данного показателя коррелировало с благоприятным исходом [43].

В проведенном нами исследовании установлено, что у гематологических пациентов ИА развивался на фоне снижения абсолютного числа Т-хелперов, естественных киллеров и угнетения продукции ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17 и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ). Наиболее выраженные нарушения установлены у реципиентов алло-ТГСК. Иммунологическими биомаркерами благоприятного течения ИА являлись абсолютное количество CD4+Т-клеток более $0,177 \times 10^9/\text{л}$ и уровень ФНО- α более 215 пг/мл [44, 45].

J.F. Camargo et al. использовали проточную цитометрию для измерения фосфорилирования транскрипционных факторов STAT1 и STAT3 в ответ на индукцию клеток гематологических больных ИФН- γ и ИЛ-6 соответственно, что позволило выявить следующие закономерности. Уровень экспрессии STAT1 в Т-клетках и их способность к продукции ИФН- γ были одинаковыми у всех включенных в исследование больных и не отличались от показателей здоровых людей. Гематологические пациенты с ИА имели иммунный фенотип, характеризующийся дефектной экспрессией дектина-1 на моноцитах, снижением числа CD4+Т-клеток, снижением чувствительности моноцитов и Т-лимфоцитов к ИЛ-6, что определяло нарушение фосфорилирования STAT3 и сниженную продукцию ИЛ-17, но не ИФН- γ [22]. Похожие результаты были получены в работе С.Е. Delsing et al., которые установили, что у 6 больных микотическим остеомиелитом была значительно снижена антигенспецифическая продукция ИЛ-17 и ИЛ-22 по сравнению с показателями здоровых людей, а продукция ИФН- γ не различалась [46].

Таким образом, определение иммунного фенотипа и мониторинг индивидуального цитокинового профиля у гематологических больных ИА в дальнейшем могут быть использованы для прогнозирования клинических исходов и определения тактики дальнейшей терапии у гематологических больных.

Заключение

Идентификация дефектов или дефицита иммунных факторов и связанных с ними аллельных вариантов генов может быть полезна для выявления категории больных с предрасположенностью к грибковым инфекциям и решения вопроса об антифунгальной профилактике у гематологических пациентов и реципиентов алло-ТГСК [16, 47]. Кроме того, выявление генетических и иммунологических биомаркеров необходимо для разработки новых терапевтических стратегий лечения инвазивного аспергиллеза (создания вакцин, адаптивной иммунотерапии с помощью аутологичных антигенспецифических клеток). Высказано предположение, что восстановление иммунного ответа посредством введения экзогенного РТХ3 или генетически модифицированных Т-лимфоцитов, обладающих противогрибковой активностью за счет экспрессии химерного рецептора дектина-1, может оказаться перспективным подходом в лечении и профилактике грибковых инфекций. В связи с этим необходимо проведение многоцентровых клинических испытаний, в ходе которых будет оценена роль иммунологических и генетических биомаркеров в прогнозировании развития и исхода инвазивного аспергиллеза у гематологических больных.

Литература

1. Klimko N., Kozlova Y., Khostelidi S., et al. The burden of serious fungal diseases in Russia // *Mycoses*, 2015, 58 (Suppl. S5), 58–62.
2. Pagano L., Caira M., Candoni A., et al. Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: a SEIFEM-2008 registry study // *Haematologica*. 2010 Apr;95(4):644-50. doi: 10.3324/haematol.2009.012054.
3. Dragonetti G., Criscuolo M., Fianchi L., Pagano L. Invasive aspergillosis in acute myeloid leukemia: Are we making progress in reducing mortality? // *Med Mycol* (2017) 55 (1): 82-86. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myw114>
4. Климко, Н.Н. Инвазивный аспергиллез: результаты многоцентрового исследования / Н.Н. Климко [и др.] // *Онкогематология*. – 2014. – № 2. – С. 13–19.
5. Segal BH. Aspergillosis. *N Engl J Med* 2009; 360:1870–84.
6. Vinh DC, Sugui JA, Hsu AP, Freeman AF, Holland SM. Invasive fungal disease in autosomal-dominant hyper-IgE syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125:1389–90.
7. Caira M, Girmenia C, Fadda RM, et al. Invasive fungal infections in patients with acute myeloid leukemia and in those submitted to allogeneic hemopoietic stem cell transplant: who is at highest risk? *Eur J Haematol* 2008; 81:242–3.
8. Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001–2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis* 2010; 50:1091–100.
9. Neofytos D, Horn D, Anaissie E, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis* 2009; 48:265–73.
10. Попова, М. О. Инвазивные микозы при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / М.О. Попова [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2012. – № 7. – С. 50–57.
11. Donnelly J. Peter A European period-prevalence study to estimate the rate of invasive pulmonary mould disease (PIM-DA study) (Электронный ресурс) / J. Peter Donnelly // *ECC-MID*. – online lecture library. – 2014. – P0028a. – Available from: <https://www.escmid.org/>.
12. Sterne JA, May M, Costagliola D, et al. Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies. *Lancet* 2009; 373:1352–63.
13. Egli A, Humar A, Kumar D. State-of-the-art monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity after organ transplant: a primer for the clinician. *Clin Infect Dis* 2012; 55:1678–89.
14. Cunha C, Aversa F, Romani L, Carvalho A. Human genetic susceptibility to invasive aspergillosis. *PLoS Pathog* 2013; 9:e1003434.
15. Wojtowicz A, Bochud PY. Host genetics of invasive Aspergillus and Candida infections. *Semin Immunopathol*. 2015;37:173–86.
16. Oliveira-Coelho A, Rodrigues F, Campos A Jr, et al. Paving the way for predictive diagnostics and personalized treatment of invasive aspergillosis. *Front Microbiol*. 2015 May 5;6:411. doi: 10.3389/fmicb.2015.00411. eCollection 2015.
17. Romani L. Immunity to fungal infections. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 275-288.
18. Camargo JF, Husain S. Immune correlates of protection in human invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2014; 59: 569-77.
19. Moalli F, Doni A, Deban L, et al. Role of complement and Fcγ receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*. *Blood* 2010; 116:5170–80.
20. Cunha C, Aversa F, Lacerda JF, et al. Genetic PTX3 deficiency and aspergillosis in stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2014; 370:421–32. DOI:16.3517.36.
21. Biagi E, Col M, Migliavacca M, et al. PTX3 as a potential novel tool for the diagnosis and monitoring of pulmonary fungal infections in immuno-compromised pediatric patients. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008; 30:881–5. DOI:10.1097/MPH.0b013e318180bc1d
22. Camargo Jose F., Bhimji A, Deepali Kumar, Rupert Kaul, Impaired T Cell Responsiveness to Interleukin-6 in Hematological Patients with Invasive Aspergillosis *PLoS One*. 2015 DOI:10.1371
23. Rivera A, Hohl TM, Collins N, et al. Dectin-1 diversifies *Aspergillus fumigatus*-specific T cell responses by inhibiting T helper type 1 CD4T cell differentiation. *J Exp Med* 2011; 208:369–81
24. Werner JL, Metz AE, Horn D, et al. Requisite role for the dectin-1 beta glucan receptor in pulmonary defense against *Aspergillus fumigatus*. *J Immunol* 2009; 182:4938–46.
25. Cunha C, Di IM, Bozza S, et al. Dectin-1 Y238X polymorphism associates with susceptibility to invasive aspergillosis in hematopoietic transplantation through impairment of both recipient- and donor dependent mechanisms of antifungal immunity. *Blood* 2010; 116:5394–402.
26. Sainz J, Lupianez CB, Segura-Catena J, et al. Dectin-1 and DC-SIGN polymorphisms associated with invasive pulmonary aspergillosis infection. *PLoS One* 2012; 7:e32273.
27. Bochud PY, Chien JW, Marr KA, et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms and aspergillosis in stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2008; 359:1766–77.
28. Fischer M, Spies-Weissbart B, Schrenk K, et al. Polymorphisms of Dectin-1 and TLR2 Predispose to Invasive Fungal Disease in Patients with Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One*. 2016 Mar 10; 11(3):e0150632. doi: 10.1371/journal.pone.0150632. eCollection 2016.
29. Chamilos G, Ganguly D, Lande R, et al. Generation of IL-23 producing dendritic cells (DCs) by airborne fungi regulates fungal pathogenicity via the induction of TH-17 responses. *PLoS One* 2010; 5:e12955.
30. Smith NL, Denning DW. Clinical implications of interferon-γ genetic and epigenetic variants. *Immunology*. 2014 Dec; 143(4):499-511. doi: 10.1111/imm.12362.
31. Lupiañez CB, Canet LM, Carvalho A. Polymorphisms in host immunity modulating genes and risk of invasive aspergillosis: Results from the aspBIOmics consortium *Infect Immun*. 2015 Dec 14;84(3):643-57.
32. Stuehler C, Khanna N, Bozza S, et al. Cross protective TH1 immunity against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. *Blood* 2011; 117: 5881-91.
33. Pelletier M., Maggi L., Micheletti A. et al. Evidence for a cross-talk between human neutrophils and Th17 cells. *Blood* 2010; 115:335–43.
34. Kim CJ, McKinnon LR, Kovacs C, et al. Mucosal Th17 cell function is altered during HIV infection and is an independent predictor of systemic immune activation. *J Immunol* 2013; 191:2164–73.
35. Muranski P, Restifo NP. Essentials of Th17 cell commitment and plasticity. *Blood* 2013; 121:2402–14.
36. Carvalho A, Cunha C, Di IM, et al. Prognostic significance of genetic variants in the IL-23/Th17 pathway for the outcome of T cell-depleted allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:1645–52. doi: 10.1038/bmt.2010.28.
37. Milner JD, Brenchley JM, Laurence A, et al. Impaired TH17 cell differentiation in subjects with autosomal dominant hyper-IgE syndrome. *Nature* 2008; 452:773–6.
38. Thakur R, Anand R, Tiwari S, et al. Cytokines induce effector T-helper cells during invasive aspergillosis; what we have

learned about T-helper cells? *Frontiers in Microbiology* | www.frontiersin.org May 2015 | Volume 6 | Article 429 P.1-6

39. Sainz J, Hassan L, Perez E, et al. Interleukin-10 promoter polymorphism as risk factor to develop invasive pulmonary aspergillosis. *Immunol Lett.* 2007; 109:76–82. DOI:10.1016.2007.01.005

40. Hebart, H. Analysis of T cell responses to *Aspergillus fumigatus* antigens in healthy individuals and patients with hematologic malignancies / H. Hebart, Bollinger, C. Fisch P., [et al.] // *Blood.* — 2002. — Vol. 100. — P.4521-4528.

41. Potenza L, Vallerini D, Barozzi P, et al. Characterization of specific immune responses to different *Aspergillus* antigens during the course of invasive Aspergillosis in hematologic patients. *PLoS One* 2013; 8(9): e74326.

42. Jolink H, Hagedoorn RS, Lagendijk EL, et al. Induction of *A. fumigatus* specific CD4+ T cells in patients recovering from invasive aspergillosis. *Haematologica* 2014 Jul; 99(7): 1255–1263.

43. Stuehler C, Kuenzli E, Veronika K. Jaeger, et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and association with occurrence and outcome of invasive aspergillosis. *J Infect Dis.* 2015 Sep 15;212(6):959-67

44. Фролова, Е.В. Прогностическое значение иммунологических показателей у гематологических больных инвазивным аспергиллезом / Е.В. Фролова [и др.] // *Проблемы медицинской микологии.* — 2014. — Vol. 16, № 3. — С. 37–44.

45. Шадривова, О.В. Прогностическое значение иммунологических показателей у реципиентов трансплантатов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток с инвазивным аспергиллезом / О.В. Шадривова [и др.] // *Проблемы медицинской микологии.* — 2015. — Vol. 17, № 1. — С. 14–20.

46. Delsing CE, Becker KL, Simon A., et al. Th17 cytokine deficiency in patients with *Aspergillus* skull base osteomyelitis. *BMC Infect Dis.* 2015 Mar 21;15:140. doi: 10.1186/s12879-015-0891-2

47. Khanna N, Stuehler C, Lünemann A., et al. Host response to fungal infections -how immunology and host genetics could help to identify and treat patients at risk. *Swiss Med Wkly.* 2016 Sep 21;146:w14350. doi: 10.4414/smw.2016.14350.

48. Kumaresan P.R., Manuri P.R., Albert N.D. et al. Bioengineering T cells to target carbohydrate to treat opportunistic fungal infection // *PNAS.* 2014. V. 111. № 29. P. 10660-10665. DOI: 10.1073/pnas.1312789111.

References

1. Klimko N., Kozlova Y., Khostelidi S., et al. The burden of serious fungal diseases in Russia // *Mycoses*, 2015, 58 (Suppl. S5), 58–62.

2. Pagano L., Caira M., Candoni A., et al. Invasive aspergillosis in patients with acute myeloid leukemia: a SEIFEM-2008 registry study // *Haematologica.* 2010 Apr;95(4):644-50. doi: 10.3324/haematol.2009.012054.

3. Dragonetti G., Criscuolo M., Fianchi L., Pagano L. Invasive aspergillosis in acute myeloid leukemia: Are we making progress in reducing mortality? // *Med Mycol* (2017) 55 (1): 82-86. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myw114>

4. Klimko N.N., Shadrivova O.V., Khostelidi S.N. et al. *Onkologematologiya.* 2014; 2:13-19 (in Russian).

5. Segal BH. *Aspergillosis.* *N Engl J Med* 2009; 360:1870–84.

6. Vinh DC, Sugui JA, Hsu AP, Freeman AF, Holland SM. Invasive fungal disease in autosomal-dominant hyper-IgE syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125:1389–90.

7. Caira M, Girmenia C, Fadda RM, et al. Invasive fungal infections in patients with acute myeloid leukemia and in those submitted to allogeneic hemopoietic stem cell transplant: who is at highest risk? *Eur J Haematol* 2008; 81:242–3.

8. Kontoyiannis DP, Marr KA, Park BJ, et al. Prospective surveillance for invasive fungal infections in hematopoietic stem cell transplant recipients, 2001–2006: overview of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET) Database. *Clin Infect Dis* 2010; 50:1091–100.

9. Neofytos D, Horn D, Anaissie E, et al. Epidemiology and outcome of invasive fungal infection in adult hematopoietic stem cell transplant recipients: analysis of Multicenter Prospective Antifungal Therapy (PATH) Alliance registry. *Clin Infect Dis* 2009; 48:265–73.

10. Popova M.O., Zubarovskaya L.S., Klimko N.N. et al. *Терапевтический архив.* 2012; 7:50-57 (in Russian).

11. Donnelly J. Peter A European period-prevalence study to estimate the rate of invasive pulmonary mould disease (PIM-DA study) (Электронный ресурс) / J. Peter Donnelly // *ECC-MID.* — online lecture library. — 2014. — P0028a. — Available from: <https://www.escmid.org/>.

12. Sterne JA, May M, Costagliola D, et al. Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies. *Lancet* 2009; 373:1352–63.

13. Egli A, Humar A, Kumar D. State-of-the-art monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity after organ transplant: a primer for the clinician. *Clin Infect Dis* 2012; 55:1678–89.

14. Cunha C, Aversa F, Romani L, Carvalho A. Human genetic susceptibility to invasive aspergillosis. *PLoS Pathog* 2013; 9:e1003434.

15. Wojtowicz A, Bochud PY. Host genetics of invasive *Aspergillus* and *Candida* infections. *Semin Immunopathol.* 2015;37:173–86.

16. Oliveira-Coelho A, Rodrigues F, Campos A Jr, et al. Paving the way for predictive diagnostics and personalized treatment of invasive aspergillosis. *Front Microbiol.* 2015 May 5;6:411. doi: 10.3389/fmicb.2015.00411. eCollection 2015.

17. Romani L. Immunity to fungal infections. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 275-288.

18. Camargo JF, Husain S. Immune correlates of protection in human invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 2014; 59: 569-77.

19. Moalli F, Doni A, Deban L, et al. Role of complement and Fcγ receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*. *Blood* 2010; 116:5170–80.

20. Cunha C, Aversa F, Lacerda JF, et al. Genetic PTX3 deficiency and aspergillosis in stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2014; 370:421–32. DOI:16.3517.36.

21. Biagi E, Col M, Migliavacca M, et al. PTX3 as a potential novel tool for the diagnosis and monitoring of pulmonary fungal infections in immuno-compromised pediatric patients. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008; 30:881–5. DOI:10.1097/MPH.0b013e318180bc1d

22. Camargo Jose F., Bhimji A, Deepali Kumar, Rupert Kaul, Impaired T Cell Responsiveness to Interleukin-6 in Hematological Patients with Invasive Aspergillosis *PLoS One.* 2015 DOI:10.1371

23. Rivera A, Hohl TM, Collins N, et al. Dectin-1 diversifies *Aspergillus fumigatus*-specific T cell responses by inhibiting T helper type 1 CD4T cell differentiation. *J Exp Med* 2011; 208:369–81

24. Werner JL, Metz AE, Horn D, et al. Requisite role for the dectin-1 beta glucan receptor in pulmonary defense against *Aspergillus fumigatus*. *J Immunol* 2009; 182:4938–46.

25. Cunha C, Di IM, Bozza S, et al. Dectin-1 Y238X polymorphism associates with susceptibility to invasive aspergillosis in

hematopoietic transplantation through impairment of both recipient- and donor dependent mechanisms of antifungal immunity. *Blood* 2010; 116:5394 – 402.

26. Sainz J, Lupianez CB, Segura-Catena J, et al. Dectin-1 and DC-SIGN polymorphisms associated with invasive pulmonary aspergillosis infection. *PLoS One* 2012; 7:e32273.

27. Bochud PY, Chien JW, Marr KA, et al. Toll-like receptor 4 polymorphisms and aspergillosis in stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2008; 359:1766 – 77.

28. Fischer M, Spies-Weissart B, Schrenk K, et al. Polymorphisms of Dectin-1 and TLR2 Predispose to Invasive Fungal Disease in Patients with Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One*. 2016 Mar 10;11(3):e0150632. doi: 10.1371/journal.pone.0150632. eCollection 2016.

29. Chamilo G, Ganguly D, Lande R, et al. Generation of IL-23 producing dendritic cells (DCs) by airborne fungi regulates fungal pathogenicity via the induction of TH-17 responses. *PLoS One* 2010; 5:e12955.

30. Smith NL, Denning DW. Clinical implications of interferon- γ genetic and epigenetic variants. *Immunology*. 2014 Dec;143(4):499-511. doi: 10.1111/imm.12362.

31. Lupiañez CB, Canet LM, Carvalho A. Polymorphisms in host immunity modulating genes and risk of invasive aspergillosis: Results from the aspBIOmics consortium *Infect Immun*. 2015 Dec 14;84(3):643-57.

32. Stuehler C, Khanna N, Bozza S, et al. Cross protective TH1 immunity against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*. *Blood* 2011; 117: 5881-91.

33. Pelletier M., Maggi L., Micheletti A. et al. Evidence for a cross-talk between human neutrophils and Th17 cells. *Blood* 2010; 115:335 – 43.

34. Kim CJ, McKinnon LR, Kovacs C, et al. Mucosal Th17 cell function is altered during HIV infection and is an independent predictor of systemic immune activation. *J Immunol* 2013; 191:2164 – 73.

35. Muranski P, Restifo NP. Essentials of Th17 cell commitment and plasticity. *Blood* 2013; 121:2402 – 14.

36. Carvalho A, Cunha C, Di IM, et al. Prognostic significance of genetic variants in the IL-23/Th17 pathway for the outcome of T cell-depleted allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:1645 – 52. doi: 10.1038/bmt.2010.28.

37. Milner JD, Brechley JM, Laurence A, et al. Impaired TH17 cell differentiation in subjects with autosomal dominant hyper-IgE syndrome. *Nature* 2008; 452:773 – 6.

38. Thakur R, Anand R, Tiwari S, et al. Cytokines induce effector T-helper cells during invasive aspergillosis; what we have learned about T-helper cells? *Frontiers in Microbiology* | www.frontiersin.org May 2015 | Volume 6 | Article 429 P.1-6

39. Sainz J, Hassan L, Perez E, et al. Interleukin-10 promoter polymorphism as risk factor to develop invasive pulmonary aspergillosis. *Immunol Lett*. 2007; 109:76 – 82. DOI:10.1016.2007.01.005

40. Hebart, H. Analysis of T cell responses to *Aspergillus fumigatus* antigens in healthy individuals and patients with hematologic malignancies / H. Hebart, Bollinger, C. Fisch P., [et al.] // *Blood*. – 2002. – Vol. 100. – P.4521-4528.

41. Potenza L, Vallerini D, Barozzi P, et al. Characterization of specific immune responses to different *Aspergillus* antigens during the course of invasive Aspergillosis in hematologic patients. *PLoS One* 2013; 8(9): e74326.

42. Jolink H, Hagedoorn RS, Lagendijk EL, et al. Induction of *A. fumigatus* specific CD4+ T cells in patients recovering from invasive aspergillosis. *Haematologica* 2014 Jul; 99(7): 1255 – 1263.

43. Stuehler C, Kuenzli E, Veronika K. Jaeger, et al. Immune reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and association with occurrence and outcome of invasive aspergillosis. *J Infect Dis*. 2015 Sep 15;212(6):959-67

44. Frolova E.V., Shadrivova O.V., Filippova L.V. et al. *Problemy meditsinskoi mikologii*. 2014; 16 (3): 37-44 (in Russian).

45. Shadrivova O.V., Frolova E.V., Uchevatkina A.E. et al. *Problemy meditsinskoi mikologii*. 2015; 17(1):14-20. (in Russian).

46. Delsing CE, Becker KL, Simon A., et al. Th17 cytokine deficiency in patients with *Aspergillus* skull base osteomyelitis. *BMC Infect Dis*. 2015 Mar 21;15:140. doi: 10.1186/s12879-015-0891-2

47. Khanna N, Stuehler C, Lünemann A., et al. Host response to fungal infections -how immunology and host genetics could help to identify and treat patients at risk. *Swiss Med Wkly*. 2016 Sep 21;146:w14350. doi: 10.4414/smw.2016.14350.

48. Kumaresan P.R., Manuri P.R., Albert N.D. et al. Bioengineering T cells to target carbohydrate to treat opportunistic fungal infection // *PNAS*. 2014. V. 111. № 29. P. 10660-10665. DOI: 10.1073/pnas.1312789111.

Авторский коллектив:

Шадривова Ольга Витальевна – ассистент кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, к.м.н.; тел.: 8(812)303-51-46, e-mail: olshadr@mail.ru

Фролова Екатерина Васильевна – заведующая НИЛ иммунологии и аллергологии Научно-исследовательского института медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, к.м.н.; тел.: 8(812)303-50-00 (4158), e-mail: labimmune@yandex.ru

Тараскина Анастасия Евгеньевна – заведующая НИЛ молекулярно-генетической микробиологии Научно-исследовательского института медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, к.б.н.; тел.: 8(812)303-50-00 (4152), e-mail: ataraskina@mail.ru

Климко Николай Николаевич – заведующий кафедрой клинической микологии, аллергологии и иммунологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, д.м.н., профессор; тел.: 8(812)303-51-40, e-mail: n_klimko@mail.ru