

Ю.В. Митин¹, Л.Р. Криничко¹, Л.Р. Криничко², В.Г. Ливенцов³, Н.Г. Ахсенова⁴,
Ф.Р. Криничко², А.В. Мотайло¹

Micetoma vs Aspergillus, или Не копей другому яму

¹Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

²Стоматологическая клиника «Кринички», г. Киев, Украина

³Борщаговский химико-фармакологический завод, г. Киев, Украина

⁴Центральная поликлиника Подольского района г. Киева, Украина

Цель: определение роли ионов цинка в патогенезе мицетомы верхнечелюстной пазухи.

Методы. В работе использовались клинические, рентгенологические, бактериологические методы для исследования пациентов, а также методы статистической обработки данных.

Результаты и выводы. В статье представлены результаты исследования содержания цинка в слизистой оболочке верхнечелюстной пазухи и в грибковом теле при мицетоме верхнечелюстной пазухи. Исследована динамика рентгенологических изменений при развитии мицетомы. Также изучена роль клеточной стенки гриба в накоплении цинка в слизистой оболочке верхнечелюстной пазухи.

Ключевые слова: мицетомы верхнечелюстной пазухи, цинк, грибковое тело, компьютерная томография.

Интерес к изучению обмена цинка при мицетоме верхнечелюстной пазухи вызван тем, что ион цинка входит в состав активного центра группы ферментов под общим названием металлопротеиназы. Эти ферменты контролируют развитие и разрушение межклеточного матрикса. Также, по данным литературы, именно эти ферменты принимают активное участие в разрушении инертных полимеров небиологического происхождения, и именно к ним относятся современные пломбировочные материалы, попадание которых в пазуху является триггерным механизмом в развитии мицетомы.

Также следует отметить, что цинк является необходимым компонентом для жизнедеятельности грибов рода *Aspergillus*, которые почти в ста процентах случаев представляют грибковое тело при данном заболевании. На этом моменте хотим остановиться подробнее. Забегая наперед сразу скажем, что в результате исследования было установлено повышенное содержание цинка в тканях, удаленных из пазухи, поэтому возникает вопрос: накопление цинка в ткани гриба – это результат метаболизма мицелия или абсорбция хитином из окружающих тканей? В каких концентрациях цинк способствует развитию гриба, а в каких начинает угнетать мицелий?

Цинк в тканях находится в виде двух фракций: в свободном виде – ионы цинка, и фракция, связанная с белками, причем свободная фракция цинка, по данным литературы, не превышает 3 %, а общая концентрация в сыворотке крови составляет 1 мкмоль/л. Относительно концентрации общего цинка в тканях организма при различных патологических состояниях в литературе присутствуют не всегда однозначные данные, особенно это касается изменения концентрации в динамике во время развития патологического процесса. В доступной нам литературе мы не нашли данных про изменения концентрации цинка ни в сыворотке крови, ни в тканях верхнечелюстной пазухи при мицетоме.

Также следует обратить внимание на некоторые нерешенные до конца вопросы, а именно, что обуславливает яркую тень на компьютерной томограмме, почему интенсивность этой тени может отличаться в несколько раз и есть ли какая-то корреляция между яркостью тени и клиническим течением заболевания.

В результате проведенных исследований сопоставили данные клинических и рентгенологических исследований, а также лабораторные показатели пациентов с мицетомой верхнечелюстной пазухи.

Исследование состояло из трех направлений: исследование концентрации цинка в крови и тканях, исследования интенсивности тени мицетомы по результатам КТ, и исследования влияния концентрированных растворов цинка как на формирование колоний, так и на развитие уже сформированных колоний гриба *Aspergillus fumigatus*.

Под нашим наблюдением находились 87 пациентов с мицетомой верхнечелюстной пазухи в возрасте от 21 года до 65-ти лет, из которых 41 человек – мужчины, и 46 – женщины. Жалобы пациентов оценивались по балльной шкале и заносились в таблицу для последующего статистического анализа. Было проведено эндоскопическое исследование полости носа всех пациентов, КТ околоносовых пазух, предоперационное лабораторное обследование. Лечение состояло в проведении эндоназальной гайморотомии или гайморотомии через переднюю стенку с последующей консервативной противовоспалительной терапией. В случае гайморотомии через переднюю стенку отверстие делалось максимально низко ко дну пазухи. Соустье с нижним носовым ходом не делалось. Полученный во время операции материал из верхнечелюстной пазухи был отправлен на микробиологическое и патологическое исследование, а также использовался для проведения атомно-абсорбционной спектроскопии.

КТ проводилась на конусно-лучевом томографе с дальнейшим использованием программы Planmeca Romexis Viewer 2.8.0.R для обработки и анализа полученных результатов. Ослабление рентгенологического излучения оценивалось в единицах Хаунсфилда (НУ).

Микробиологическое исследование проводилось на базе лаборатории Александровской клинической больницы. Материал, удаленный из пазухи, высеивался на стандартные среды Сабуро, а также на среды Сабуро с добавлением изосмологических растворов сульфата и хлорида цинка с эквивалентным содержанием ионов цинка, которое соответствовало его средней концентрации в удаленных во время операции тканях из верхнечелюстной

пазухи. Аналогичный раствор добавлялся через 21 день с момента посева в половину чашек с уже выросшими колониями гриба с дальнейшим сравнением динамики развития колоний *Aspergillus*. Во всех случаях, в которых был подтвержден рост *Aspergillus fumigatus*, колонии гриба оценивались макро- и микроскопически – размер колоний, однородность, время, прошедшее до начала образования конидиеносцев, время от образования конидиеносцев до начала некротических изменений в мицелии.

Определение содержания цинка проводилось на атомно-абсорбционном спектрометре «Spectr AA-50» производства США. Было получено не менее трех значений для исследуемого образца и для каждого из образцов сравнения при соблюдении следующих условий: в качестве источника излучения использовалась лампа с полым цинковым катодом, источник пламени – ацетилен-воздух, длина волны составляла 213,9 нм, корректором фона была дейтериевая лампа D2, скорость подачи воздуха составляла от 10 до 12 л/мин, скорость подачи ацетилена составляла от 1,2 до 1,4 л/мин, ширина щели монохроматора – 1,0 нм. Был построен калибровочный график средних значений поглощения растворов сравнения в зависимости от их концентрации, по которым определялась концентрация цинка в испытуемом растворе на основании числа поглощения, после чего был введен испытуемый раствор. Содержимое цинка (Zn) в образце в микрограммах на грамм образца вычислялось по формуле:

$$Zn = \frac{C \times K}{m} = \frac{C \times K}{m},$$

где: C – концентрация цинка в испытуемом растворе, найденная по калибровочному графику, в мкг/мл;
 m – масса навески образца в граммах;
 K – коэффициент пересчета на разведение.

Относительное стандартное отклонение от значения поглощения, рассчитанное из трех параллельных измерений, должно быть не более 5,0 %.

В этом исследовании было проведено сравнение трех образцов. Первый исследовали на содержание цинка в самом так называемом грибковом теле. Второй – на содержание цинка в полипозно-измененной слизистой оболочке верхнечелюстной пазухи. Третий – на содержание цинка в колонии *Aspergillus*, полученной в лабораторных условиях. Полученные данные сравнивались с результатами аналогичных исследований пациентов с хроническим полипозным гайморитом, у которых материалом для анализа было содержимое верхнечелюстной пазухи, полученное во время гайморотомии. Подчеркнем, что было исследовано только общее содержание цинка в тканях, так как при помощи данного метода невозможно отличить свободный цинк от связанного.

В результате анализа проведенных КТ во всех случаях была выявлена тень в верхнечелюстной пазухе с НУ от 214 до 2800. В среднем же значение составило НУ 1850. Было высказано предположение, что такой разброс показателей связан с «возрастом» грибкового тела, однако взаимосвязь между давностью интервенции в каналах зубов верхней челюсти и НУ выявлена не была. Взаимосвязь была выявлена при анализе длительности клинически выраженной стадии мицетомы и НУ. У 63 % пациентов длительность клинической стадии была больше двух недель и при этом НУ в среднем было 1125, а у остальных 37 % длительность клинической стадии заболевания составила менее двух недель и при этом среднее значение НУ было 2420.

Тут сразу возникает два вопроса: почему больше половины пациентов более двух недель терпят клинические проявления мицетомы, которые ничем не отличаются от клинических проявлений острого риногенного гайморита, и почему такой разброс в средних значениях НУ? Анализ жалоб и анамнестических данных показал, что у этих 63 % пациентов интенсивность клинических проявлений, измеренная по балльной шкале, в среднем на 43 % меньше, чем у людей, обратившихся за помощью в течение двух недель с момента возникновения клинических проявлений. Что касается ответа на второй вопрос, то здесь необходимо проанализировать данные, полученные в результате проведенной атомно-абсорбционной спектрометрии.

Итак, содержание цинка в тканях грибкового тела, удаленного из верхнечелюстной пазухи, было в среднем в 2,9 раза больше, чем содержание цинка в измененной слизистой оболочке этой же пазухи. По отношению к «нормальной» слизистой оболочке (той, которая была удалена из пазухи при хроническом полипозном гайморитом) это превышение составило в среднем 5,1. Соответственно, повышение концентрации в тканях, окружающих мицетому, составляло в среднем 2,4 раза. Однако содержание цинка в грибковом теле у пациентов с длительностью клинических проявлений до двух недель было в среднем больше в 2,1 раза, чем у пациентов с длительностью клинической стадии мицетомы более двух недель. Идентичная зависимость наблюдается и при сопоставлении концентрации цинка в тканях верхнечелюстной пазухи: концентрация больше в среднем в 1,65 раза. Таким образом, прослеживается прямая зависимость между интенсивностью клинических проявлений, яркостью тени на КТ и концентрацией цинка. К сожалению, еще очень далеко до окончательного и однозначного ответа на вопрос, почему так значительно повышается концентрация цинка в очаге воспаления при мицетоме, но с очень высокой долей вероятности можно утверждать, что *Aspergillus* его не вырабатывает. Подтверждением этого стали результаты атомно-абсорбционной спектрометрии колоний гриба, полученных в лабораторных условиях, о грибковом теле, извлеченного из пазухи, в среднем содержание цинка в них меньше в 4,8 раза. Полученные данные полностью соответствуют данным литературы о том, что хитин, который в *Aspergillus* представлен в виде хитин-глюканового комплекса, очень хорошо поглощает ионы металлов. А уже как это сказывается на метаболизме гриба, отчасти можно наблюдать, проанализировав данные микробиологического исследования.

В результате исследований роста грибов было установлено, что воздействие раствора цинка увеличивает вероятность полного разрушения колонии *Aspergillus* до момента образования конидиеносцев в 3,1 раза, нарушение однородности колоний – в 8,2 раза, при этом некроз в колонии гриба наблюдается уже в первые сутки после добавления цинксодержащего раствора. Следует подчеркнуть, что вероятность прорастания спор на среде в чашках с добавлением цинка снижается в среднем в четыре раза, а некроз в колонии всегда предшествует образованию конидиеносцев, в то время как в группе колоний на стандартной среде среднее время между образованием конидиеносцев и выявлением некроза мицелия в среднем составляет трое суток. Полученные данные позволяют утверждать, что концентрация цинка в тканях, окружающих грибковое тело в верхнечелюстной пазухе в клинической стадии мицетомы, приводит к нарушению развития мицелия и в более чем три раза увеличивает вероятность его некроза. Подчеркнем: именно концентрация в тканях, когда у пациентов имеются клинические проявления, и эта концентрация в

среднем в 3–4 раза превышает норму. Мы акцентируем внимание на этом потому, что в литературе и в наших собственных исследованиях имеется информация, что цинк необходим грибу для построения клеточной стенки и нормальной жизнедеятельности, и умеренное повышение содержания цинка благотворно сказывается на развитии *Aspergillus* в верхнечелюстной пазухе. Результаты описанных выше исследований, данные проведенных исследований ранее, а также анализ данных литературы позволяют утверждать:

1. В слизистой оболочке верхнечелюстной пазухи при мицетоме увеличение содержания цинка обусловлено повышением как концентрации, так и активности металлопротеиназ, и в более чем 1,8 раза выше, чем в контрольной группе.

2. Цинк абсорбируется хитином гриба из окружающих тканей и его концентрация увеличивается в более чем пять раз, что увеличивает вероятность некроза мицелия в более чем три раза.
3. Интенсивность «свечения» мицетомы на КТ определяется количеством цинка, абсорбированного хитином гриба.
4. Начало клинических проявлений у пациентов с мицетомой с вероятностью более 70 процентов совпадает с максимальными ослаблением рентгенологического излучения при КТ околоносовых пазух.

Таким образом, накопление цинка как окружающими тканями, так и самим грибом в конечном итоге способствует его разрушению, что в свою очередь приводит к развитию острой стадии мицетомы верхнечелюстной пазухи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fischer H., Widdicombe J. Mechanisms of Acid and Base Secretion by the Airway Epithelium // J. Membr. Biol. – 2006; 211 (3): 139–150.
 2. Gurbns C., Mederle O. The OPG/RANKL system and zinc ions are promoters of bone remodeling by osteoblast proliferation in postmenopausal osteoporosis // Rom. J. Morphol. Embryol. – 2011, 52 (3 Suppl.): 1113–1119.
 3. Kahveci O.K., Derekooy F.S., Yilmaz M., Serteser M., Altuntas A. The role of MMP-9 and TIMP-1 in nasal polyp formation // Swiss Med. Wkly. – 2008, Nov. 15; 138 (45–46): 684–8.

4. Kuriyama C., Mori K., Nakagawa Y. et al. Zinc concentration as an indicator to distinguish painless thyroiditis-associated transient hypothyroidism from permanent hypothyroidism Endocrine Journal 2011, 58 (1), 59-63
 5. Vicente-franqueira R., Moreno M., Leal F. et al. The zrfA and zrfB Genes of *Aspergillus fumigatus* Encode the Zinc Transporter Proteins of a Zinc Uptake System Induced in an Acid, Zinc-Depleted Environment // EUKARYOTIC CELL, May 2005, p. 837–848.
 6. Willger S., Grahl N., Cramer R. *Aspergillus fumigatus* metabolism: Clues to mechanisms of in vivo fungal growth and virulence // Med. Mycol. – 2009; 47 (Suppl. 1): S. 72–79.

Micetoma vs Aspergillus, або Не рий яму іншому

Ю.В. Мітін, Л.Р. Криничко, Л.Р. Криничко, В.Г. Лівенцов, Н.Г. Аксенова, Ф.Р. Криничко, О.В. Мотайло

Мета: визначення ролі іонів цинку в патогенезі мицетом верхньощелепної пазухи.

Методи. У роботі використовувалися клінічні, рентгенологічні, бактеріологічні методи дослідження пацієнтів, а також методи статистичної обробки даних.

Результати та висновки. У статті представлені результати дослідження вмісту цинку у слизовій оболонці верхньощелепної пазухи й у грибовому тілі при мицетомі верхньощелепної пазухи. Досліджено динаміку рентгенологічних змін при розвитку мицетоми. Також вивчена роль клітинної стінки гриба в накопиченні цинку у слизовій оболонці верхньощелепної пазухи.

Ключові слова: мицетом верхньощелепної пазухи, цинк, грибове тіло, комп'ютерна томографія.

Micetoma vs Aspergillus – who digs a pit for others may fall himself there in

Yu. Mitin, L. Krynychko, L. Krynychko, V. Liventsov, N. Aksionova, F. Krynychko, O. Motailo

Aim: to determine the role of zinc ions in the pathogenesis of maxillary sinus mycetoma.

Methods. In the article the clinical, radiological, bacteriological methods of study patients were used. Also the statistical methods were used.

Results. The article presents the results of a study of zinc content in the mucosa of the maxillary sinus and fungal mycetoma body in the maxillary sinus. The dynamics of radiological changes in the development of mycetoma was observed. The role of the cell wall of the fungus in the accumulation of zinc in the mucosa of the maxillary sinus was studied.

Key words: maxillary sinus mycetoma, zinc, fungal body, CT, tomography

Митин Юрий Владимирович – д-р мед. наук, профессор.

Адрес: 01201, г. Киев, ул. Шелковичная, 39/1. **Тел.:** +38 (044) 467-67-08. **E-mail:** avm@bigmir.net.

Криничко Лилия Романовна – канд. мед. наук,

ассистент кафедры оториноларингологии Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца.

Адрес: 01201, г. Киев, ул. Шелковичная, 39/1. **Тел.:** +38 (044) 467-67-08. **E-mail:** krinichko@bigmir.net.

Криничко Леонид Романович – врач-стоматолог, стоматологическая клиника «Кринички».

Адрес: 01204, г. Киев, ул. Кудряшова, 7. **Тел.:** +38 (044) 244-06-54. **E-mail:** lromanovna@bigmir.net.

Ливенцов Владимир Григорьевич – сотрудник отдела биохимических исследований,

Борщаговский химико-фармакологический завод.

Адрес: 03680, г. Киев, ул. Мира, 173. **Тел.:** +38 (044) 205-41-10. **E-mail:** liventsov@gmail.com.

Криничко Феликс Романович – врач-стоматолог, стоматологическая клиника «Кринички».

Адрес: 01204, г. Киев, ул. Кудряшова, 7. **Тел.:** +38 (044) 244-06-54. **E-mail:** lromanovna@bigmir.net.

Аксенова Наталия Георгиевна – врач-оториноларинголог, центральная поликлиника Подольского района г. Киева.

Адрес: 04074, г. Киев, ул. Мостицкая, 9. **Тел.:** +38 (044) 460-26-83. **E-mail:** krinichko@bigmir.net.

Мотайло Алексей Владимирович – канд. мед. наук,

ассистент кафедры оториноларингологии Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца.

Адрес: 01201, г. Киев, ул. Шелковичная, 39/1. **Тел.:** +38 (044) 467-67-08. **E-mail:** avm@bigmir.net.