

## Некоторые перспективы в изучении *Microsporium canis* (обзор литературы)

И.В. Хамаганова

РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

### Some prospects in the research of *Microsporium canis* (review)

I.V. Khamaganova

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

#### Аннотация

Значительное распространение и рост дерматофитий, обусловленных *Microsporium canis*, определяют интерес к исследованиям этого возбудителя. В последнее время оказались эффективными такие технологии как метаболомика, транскриптомика, протеомика. Показана роль цинка, дефицит которого влияет на экспрессию генов, метаболизм и патогенность *Microsporium canis*. Также было доказано, что циклические липопептиды, полученные из *Bacillus subtilis*, оказывают ингибирующий эффект на рост *M. canis*, полученного от кошек.

#### Ключевые слова

*Microsporium canis*, метаболомика, транскриптомика, протеомика.

#### **Введение**

В 2020 году в Российской Федерации зарегистрировано 1,7 тыс. человек с трихофитией или 1,1 на 100 000 населения. В этом же году было зарегистрировано 59,0 тыс. человек с микроспорией или 40,3 на 100 000 населения [1]. Инфекции, обусловленные *Microsporium canis*, распространены по всему миру.

В настоящее время хорошо изучены возможные пути передачи микроспории от домашних [2], бесхозных [3], диких животных [4]. Представлены данные о генетической изменчивости *Microsporium canis* (*M. canis*), выделенного от кошек, собак, людей [5].

Продолжительность инкубационного периода при микроспории, обусловленной *M. canis*, составляет 5-7 дней. Чаще болеют дети, примерно

#### Summary

The significant growth and spread of dermatophytosis caused by *Microsporium canis* determine the interest to the research of this causative agent. The last time such technologies as metabolomics, transcriptomics and proteomics appeared to be effective. The role of zinc was examined. Zinc deficiency effect on gene expression, metabolism and pathogenicity of *Microsporium canis*. It was also proved that cyclic lipopeptides obtained from *Bacillus subtilis* inhibit the growth of cat's *Microsporium canis*.

#### Keywords

*Microsporium canis*, metabolomics, transcriptomics, proteomics.

30-33% составляют взрослые [6]. В многочисленных наблюдениях было показано, что при этом заболевании могут поражаться: волосы, преимущественно в затылочной, теменной и височной областях. В эритематозно-сквамозных очагах округлой и овальной формы с четкими границами волосы обламываются на 4-6 мм. Могут поражаться ресницы и брови. Более чем у 80% пациентов поражаются пушковые волосы. На гладкой коже эритемато-сквамозные очаги имеют четкие границы, в разной степени выражена экссудация, инфильтрация. Ногти поражаются исключительно редко [7-16].

Кроме того, возможно атипичное течение микроспории, включающее такие формы как экссудативная, нагноительная, инфильтративная, розацеа-подобная, псориазиформная, себороеид-

ная, трихофитоидная [17-20]. Описано течение трихомикоза, обусловленного *M. canis*, клиническое течение которого имело большое сходство с эритематозной пузырчаткой [21].

Целью настоящего обзора стал анализ последних данных о свойствах *Microsporum canis*.

В последних исследованиях микроорганизмов применялись:

- метаболомика – технология, позволяющая идентифицировать и количественно оценить спектр низкомолекулярных метаболитов (бактериальных), присутствующих в биологическом материале [22-25];
- транскриптомика – технология, которая устанавливает интенсивность синтеза всех молекул РНК (транскриптов), продуцируемых в прокариотических клетках организма, измерить экспрессию [26, 27];
- протеомика – изучение совокупности всех белков, продуцируемых микробным сообществом [28-30].

Известно, что в патогенезе микроспории важную роль играет кератинолитическая активность грибов. *M. canis* секретирует протеазы, которые разрушают содержащие кератин структуры до олигопептидов, а также свободные аминокислоты, которые затем используются грибами как источник питания. Протеолитическое разрушение кератина возможно после редукции дисульфидных мостиков (S-S)/Сульфит [SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>] экскретируется посредством сульфитного насоса и действует как редуцирующий агент. Высвобождаемая структура кератина делает пептидные связи более доступными для потребления секретируемыми протеазами. Кооперация между протеазами и редуцирующим агентом приводит к формированию мелких пептидов и аминокислот, которые могут восприниматься клеткой грибов. Цистеин, который проявляется при декомпозиции кератина, довольно токсичен, но может метаболизироваться до сульфита путем действия фермента цистеин-диоксигеназы тип 1 (обозначается как CDO1) и сформированный сульфит вновь экскретируется клеткой гриба, которая затем способствует разрушению кератина, что является одним из важных вирулентных свойств этих патогенов [31].

Сравнительный анализ генома и транскриптома, протеома и метаболома – необходимые исследования в комплексе и в динамике. Экспрессия гена не всегда отражает напрямую активность компонентов, таких как белки и метаболиты. Важна информация о профиле метаболитов или белков, при сопоставлении опытных и контроль-

ных образцов, необходимо исследовать данные о качественных и количественных изменениях, вызванных стимулирующим фактором 15. Масс-спектрометрия (MS) – это основной метод для исследования метаболомики. Этот метод широко используется в биологии для оценки ответа на окружающие стимулы. Клеточные процессы характеризуются продукцией уникальных химических «отпечатков» пальцев, группы метаболитов со специфической композицией. В проведенном исследовании на основе сочетания хроматографии и масс спектрометрии был проведен анализ метаболитов *T. rubrum* и *M. canis*, при этом клетки культивировали (росли) в присутствии двух источников углерода, таких как кератин, что приводило к мимикрии, подобно поражению клеток хозяина дерматофитной инфекцией, а также в присутствии глюкозы [31].

Полученные результаты обнаружили, что изоляты этих грибов обладают способностью разрушать кератин.

С помощью метаболомики значительная часть компонентов (27%) была определена как фактор более интенсивно выявляемые в питательной среде наряду с кератином, три из них L-аланин, кинуреновая кислота и цистеин присутствовали только в фазе роста. Два из трех витаминов, а именно никотиновая кислота и парааминобензойная кислота, были классифицированы как специфичные для контрольной среды, третий – рибофлавин – продуцировался более интенсивно в присутствии кератина. Повышение синтеза аминокислот, таких как L-аланин, L-тирозин, аспарагиновая кислота, L-триптофан, глутамин, отмечалось при разрушении кератина [31].

В предварительном исследовании сравнительный геномный анализ 5-ти видов дерматофитов, таких как *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *T. equinum*, *M. canis* и *M. gypseum*, выявил ряд межспецифических отличий с тем, как предполагалось, что некоторые гены, а также посттранскрипционная регуляция, известны запасные факторы дерматофитов, необходимые для приживания в разных нишах и у разных хозяев. Предпринятое исследование по метаболомическому анализу было необходимо, чтобы ответить на вопрос – как эти патогены адаптированы к разным нишам и как они утилизируют потребляемые питательные вещества, необходимые для приживания и роста в период взаимодействия в системе хозяин – дерматофит.

Начало практически всех дерматофитных инфекций *in vivo* происходит в форме прямого контакта клеток патогена с мишенями, структу-

рами организма хозяина. Если условия способствуют инфекции, артроконидии дерматофитов адгезируют на кератинизированных тканях и начинается процесс пенетрации. Дерматофиты продуцируют широкий спектр протеолитических ферментов, которые важны для проявления их патогенности и вирулентности, это ключевые белки, вовлекаемые в деградацию кератина. В процессе деградации выделяются аминокислоты, метаболизм которых приводит к секреции аммония, который изменяет исходный pH в тканях с кислого (pH 5,0) до щелочного (pH 8,5) примерно через 72-96 ч, продуцируя микроокружение известных кератинолитических протеаз с оптимальной активностью энзимов. *T. rubrum* и *M. canis* проявляли самую высокую кератинолитическую активность через 48 ч от начальной точки. Оптимум pH для продукции кератиназ был слабощелочным (pH 7,2).

После 48 ч значительно повышался уровень внутриклеточных аминокислот и были отмечены их производные, когда грибы деградировали кератин, которые могли быть использованы как источники углерода, азота, серы.

Компоненты, такие как L-аланин, кинуреновая кислота и цистеин в случае *Tr rubrum*, а также цистеин и рибофлавин в случае *Microsporium canis* были определены только в среде с присутствием кератина. Кинуреновая кислота проявляла строго иммуносупрессирующие свойства на клетки иммунной системы, что приводило к слабо выраженной активности за счет ограниченной продукции цитокинов, включая интерлейкины (IL), включая IL-4, IL-23, TNF $\alpha$ , кроме того, эта кислота ингибировала фактор Th17 лимфоцитарной дифференцировки. IL-17 продуцируется Th17 клетками, которые играют важную роль в активации противогрибкового ответа. Эти дерматофиты представляют пути ухода от иммунного ответа, они избегают иммунного ответа в период инфекции, что создает сложности в их терапии. Полагают, что L-аланин – это важный компонент белков, ответственных за процесс патогенеза дерматофитных грибов. В случае высоковирулентного мутанта, такого патогена как нулевая цепь *Candida albicans*, l-alanine – это часть идентифицированных белков клеточной стенки. Анализ показал, что белки клеточной стенки играют существенную роль в биосинтезе и реарранжировке клеточной стенки как факторы вирулентности. За время метаболомического анализа *T. rubrum* и *M. canis* цистеин был выявлен только в период разрушения кератина

этим грибами. Продукт деградации кератина цистеин подвергается воздействию цистеин диоксигеназы в серной кислоте. Этот компонент – предшественник таурина или пирувата и сульфата, которые могут вовлекаться в процесс разрушения кератина. Цистеин – довольно хороший источник серы, его часто используют как компонент среды для патогенов.

Рибофлавин (витамин B2) был вторым внутриклеточным метаболитом, который выявили у *M. canis* только в период разрушения кератина. Рибофлавин – предшественник флавиномонуклеотида, так и флавинадениндинуклеотида, которые являются кофакторами, необходимыми для катаболического оксидативного процесса. Вирулентность патогенов часто основана на их способности извлекать железо из окружающей среды. Поэтому повышение продукции рибофлавина грибом *M. canis* в период разрушения кератина может рассматриваться как один из факторов адаптационного процесса при инфекции. Биохимический путь для синтеза этого метаболита должен предопределить мишень для антимикотического средства [31].

Цинк – это важный микроэлемент организма и играет важную роль в клетках. Цинк – это структурный и каталитический кофактор для многих белков. Примерно 8% белков обычно нуждаются в связывании с цинком для функционирования сахаролитических грибов *Saccharomycetes*. Грибы вовлекаются в комплекс для регуляции абсорбции цинка и дальнейшего транспорта для поддержания концентрации ионов цинка и нормального функционирования. Абсорбция ионов Zn контролируется генетически Zap1. Гены, гомологичные Zap1, были идентифицированы у таких патогенных грибов как *Aspergillus fumigates*, *Candida albicans*, *Cryptococcus gattii*. Однако эффекты дефицита цинка на экспрессию генов, метаболизм и патогенность не ограничены только *M. canis*. Более того, в данной работе была получена RNA-Seq *M. canis* в отсутствие цинка. ZafA ген, который частично гомологичен Zap1, в значительной мере регулирует рост *M. canis* при рестрикции цинка и может быть основным фактором транскрипции, регулирующим гомеостаз цинка. Таким образом, метод указал на функцию гена ZafA [32].

Особое место занимают исследования, направленные на разработку методов лечения. Так, было показано, что циклические липопептиды, полученные из *Bacillus subtilis*, оказывают ингибирующий эффект на рост *M. canis*, полученного от кошек [33].

## Заключение

В последних исследованиях было показано, что разрушение кератина вызывает изменение внутриклеточной метаболической активности *M. canis*. Цистеин и рибофлавин значимы для *M. canis*. При участии этих компонентов осуществляется мимикрия дерматофитной инфекции

относительно клеток хозяина. Показано, что семейство генов, связанных с абсорбцией цинка, в перспективе должно систематически изучаться.

При разработке новых методов лечения микроспории целесообразно учитывать свойство компонентов некоторых бактерий ингибировать рост *M. canis*.

## Литература

1. Здравоохранение в России. Статистический сборник. М.: Росстат. 2021, 171 с.
2. Chupia V., Ninsuwon J., Piyarungsri K. et al. Prevalence of *Microsporum canis* from Pet Cats in Small Animal Hospitals, Chiang Mai, Thailand. *Vet Sci.* 2022 Jan 9;9(1):21. doi: 10.3390/vetsci9010021. PMID: 35051105; PMCID: PMC8781634.
3. da Cunha M.M., Capote-Bonato F., Capoci I.R.G. et al. Epidemiological investigation and molecular typing of dermatophytosis caused by *Microsporum canis* in dogs and cats. *Prev Vet Med.* 2019 Jun 1;167:39-45. doi: 10.1016/j.prevetmed.2019.03.019. Epub 2019 Mar 26. PMID: 31027719.
4. Котрехова Л.П., Чилина Г.А., Пчелин И.М. и др. Случай успешной терапии микроспории у больного, заразившегося от слона, сертаконозлом. *Клиническая дерматология и венерология* 2019; Т. 18, №2:154-159.
5. da Costa F.V., Farias M.R., Bier D. et al. Genetic variability in *Microsporum canis* isolated from cats, dogs and humans in Brazil. *Mycoses.* 2013 Sep;56(5):582-8. doi: 10.1111/myc.12078. Epub 2013 Apr 2. PMID: 23551796.
6. Хамаганова И.В., Беличков А.Н. Микроспория у взрослых. *Клиническая дерматология и венерология* 2017; Т. 16, №2:8-12.
7. Потекаев Н.Н. Микроспория. *РМЖ* 2000; Т. 8, №4:189.
8. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Чему учат клинициста исследования эпидемиологии дерматомикозов? *Успехи медицинской микологии* 2003; Т. 2:154-155
9. Потекаев Н.Н., Потекаев Н.С. Микроспория волосистой части головы, эффективность и сроки наблюдения. *Клиническая дерматология и венерология* 2005; №4:96.
10. Потекаев Н.Н., Корсунская И.М., Серов Д.Н. Микотическая инфекция в России: заболеваемость, клинические характеристики, опыт терапии отечественными антимикотиками. *Клиническая дерматология и венерология* 2006; Т. 4, №3:92-95.
11. Разнатовский К.И., Родионов А.Н., Котрехова Л.П. *Дерматомикозы: руководство для врачей.* ИД СПбМАПО, 2006. (2-е изд.).
12. Сергеев В.Ю., Сергеев А.Ю. Дерматофитии: новое в диагностике, терапии и профилактике наиболее распространенных микозов человека. *Дерматология. Приложение к журналу Consilium Medicum* 2008; №1:30-35.
13. Яковлев А.Б. Современные концепции терапии микроспории и трихофитии. *Российский журнал кожных и венерических болезней* 2014; №6:22-29.
14. Aneke C.I., Otranto D., Cafarchia C. Therapy and antifungal susceptibility profile of *Microsporum canis*. *J Fungi (Basel)*. 2018 Sep 5;4(3):107. doi: 10.3390/jof4030107.
15. Saunte D.M.L., Piraccini B.M., Sergeev A.Y. et al. A survey among dermatologists: diagnostics of superficial fungal infections – what is used and what is needed to initiate therapy and assess efficacy? *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 2019; Т. 33, №2:421-427.
16. Wang T., Chen J.Q. Tinea Capitis. Due to *Microsporum canis*. *N Engl J Med.* 2021 Nov 25;385(22):2077. doi: 10.1056/NEJMicm2108047. Epub 2021 Nov 20. PMID: 34797615.
17. Berg J.C., Hamacher K.L., Roberts G.D. Pseudomycetoma caused by *Microsporum canis* in an immunosuppressed patient: a case report and review of the literature. *J Cutan Pathol.* 2007 May;34(5):431-434. doi: 10.1111/j.1600-0560.2006.00628.x. PMID: 17448202.
18. Krunic A.L., Cetner A., Tesic V. et al. Atypical favic invasion of the scalp by *Microsporum canis*: report of a case and review of reported cases caused by *Microsporum* species. *Mycoses.* 2007 Mar;50(2):156-9. doi: 10.1111/j.1439-0507.2006.01341.x. PMID: 17305783.
19. Медведева Т.В., Леина Л.М., Чилина Г.А. и др. Микроспория: редкие клинические случаи. *Клиническая дерматология и венерология* 2012;10(4):94-101.
20. Yang Z., Chen W., Wan Z. et al. Tinea Capitis by *Microsporum canis* in an Elderly Female with Extensive Dermatophyte Infection. *Mycopathologia.* 2021 May;186(2):299-305. doi: 10.1007/s11046-020-00519-9. Epub 2021 Jan 26. PMID: 33496917; PMCID: PMC8106592.
21. Amano H., Kishi C., Yokoyama Y. et al. *Microsporum canis* infection mimics pemphigus erythematosis. *Indian J Dermatol.* 2013 May;58(3):243. doi: 10.4103/0019-5154.110866. PMID: 23723503; PMCID: PMC3667315.
22. Bujak R., Struck-Lewicka W., Markuszewski M.J. et al. Metabolomics for laboratory diagnostics. *J Pharm Biomed Anal.* 2015 Sep 10;113:108-20. doi: 10.1016/j.jpba.2014.12.017. Epub 2014 Dec 25. PMID: 25577715.
23. Schrimpe-Rutledge A.C., Codreanu S.G., Sherrod S.D. et al. Untargeted Metabolomics Strategies-Challenges and Emerging Directions. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2016 Dec;27(12):1897-1905. doi: 10.1007/s13361-016-1469-y. Epub 2016 Sep 13. PMID: 27624161; PMCID: PMC5110944.
24. Jang C., Chen L., Rabinowitz J.D. Metabolomics and Isotope Tracing. *Cell.* 2018 May 3;173(4):822-837. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.055. PMID: 29727671; PMCID: PMC6034115.
25. Rinschen M.M., Ivanisevic J., Giera M. et al. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019 Jun;20(6):353-367. doi: 10.1038/s41580-019-0108-4. PMID: 30814649; PMCID: PMC6613555.
26. Chambers D.C., Carew A.M., Lukowski S.W. et al. Transcriptomics and single-cell RNA-sequencing. *Respirology.* 2019 Jan;24(1):29-36. doi: 10.1111/resp.13412. Epub 2018 Sep 28. PMID: 30264869.
27. de Jong E., Bosco A. Unlocking immune-mediated disease mechanisms with transcriptomics. *Biochem Soc Trans.* 2021 Apr 30;49(2):705-714. doi: 10.1042/BST20200652. PMID: 33843974; PMCID: PMC8106500.
28. Aslam B., Basit M., Nisar M.A. et al. Proteomics: Technologies and Their Applications. *J Chromatogr Sci.* 2017 Feb;55(2):182-196. doi: 10.1093/chromsci/bmw167.

29. Saleh S., Staes A., Deborggraeve S. et al. Targeted Proteomics for Studying Pathogenic Bacteria. *Proteomics*. 2019 Aug;19(16):e1800435. doi: 10.1002/pmic.201800435.
30. Shiny M.C., Madhusudan I., Gaurav I.R. et al. Potential of proteomics to probe microbes. *J Basic Microbiol*. 2020 Jun;60(6):471-483. doi: 10.1002/jobm.201900628.
31. Ciesielska A., Kawa A., Kanarek K. et al. Metabolomic analysis of *Trichophyton rubrum* and *Microsporum canis* during keratin degradation. *Sci Rep*. 2021 Feb 17;11(1):3959. doi: 10.1038/s41598-021-83632-z. PMID: 33597693; PMCID: PMC7889620.
32. Dai P, Lv Y., Gong X. et al. RNA-Seq Analysis of the Effect of Zinc Deficiency on *Microsporum canis*, ZafA Gene Is Important for Growth and Pathogenicity. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Sep 16;11:727665. doi: 10.3389/fcimb.2021.727665. PMID: 34604111; PMCID: PMC8481874.
33. Tunsagool P, Ploypetch S., Jaresitthikunchai J. et al. Efficacy of cyclic lipopeptides obtained from *Bacillus subtilis* to inhibit the growth of *Microsporum canis* isolated from cats. *Heliyon*. 2021 Sep 11;7(9):e07980. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07980. PMID: 34585007; PMCID: PMC8450251.

### Сведения об авторе

Хамаганова Ирина Владимировна – РНИМУ им. Н.И. Пирогова. E-mail: irina.khamaganova@gmail.com.

Статья принимает участие в конкурсе научных публикаций по медицинской микологии, объявленном Академией Микологии в 2021 году