

НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ.

Козлова Я.И.², Фролова Е.В.², Учеваткина А.В.², Филиппова Л.В.²

Соболев А.В.¹, Клишко Н.Н.¹

¹ Кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии

² НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Адрес для корреспонденции:

194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба 1/28.

E-mail: kozlova510@mail.ru

NEW BIOMARKERS IN THE DIAGNOSIS OF ALLERGIC BRONCHOPULMONARY ASPERGILLOSIS IN PATIENTS WITH ASTHMA.

Kozlova Y.I.¹, Frolova E.V.², Uchevatkina A.E.², Filippova L.V.², Sobolev A.V.¹, Klimko N.N.¹

¹ Department of clinical mycology, allergy and immunology

² Kashkin Research Institute of Medical Mycology North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg.

Резюме. Аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) – тяжелое заболевание легких, обусловленное гиперчувствительностью к *Aspergillus* spp., которое осложняет течение бронхиальной астмы и муковисцидоза. Изучение роли различных иммунологических медиаторов в формировании хронического аллергического воспаления у больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом необходимо для своевременной диагностики заболевания, а также выявления возможных мишеней для терапевтического вмешательства. Проведено обследование 21 больного АБЛА, 25 больных бронхиальной астмой с микогенной сенсibilизацией (БАМС), 37 больных бронхиальной астмой (БА) и 16 условно здоровых лиц. У больных АБЛА установлены достоверно более высокие значения числа эозинофилов, уровней общего IgE, sIgE к *A. fumigatus*, тимус-ассоциированного регуляторного хемокина (thymus and activation-regulated chemokine; TARC) и IL-8 в сыворотке крови по сравнению с больными БА. Не установлено различий в содержании тимического стромального лимфопоэтина (Thymic stromal lymphopoietin; TSLP) между обследованными группами пациентов. Положительная корреляционная связь уровня TARC с показателями общего IgE, sIgE к *A. fumigatus*, числом эозинофилов и отрицательное корреляционное взаимоотношение со значениями ОФВ1 подтверждает важное диагностическое значение данного провоспалительного хемокина у больных АБЛА. Таким образом, использование современных иммунологических биомаркеров, наряду с традиционными показателями, позволит более дифференцированно подходить к оценке развития АБЛА у больных бронхиальной астмой, доказательно выделять ранние

стадии заболевания и своевременно начинать антимикотическую терапию.

Введение. *Aspergillus* spp. – один из основных источников аллергенов как в окружающей среде, так и внутри жилых и производственных помещений. Исследования последних лет установили связь грибковой сенсibilизации с тяжелым течением БА, о чем свидетельствуют ухудшение функции легких и увеличение числа госпитализаций больных в связи с обострением заболевания [1,2]. Клинические проявления гиперчувствительности к *Aspergillus* spp. у больных с атопией могут варьировать от обострения бронхиальной астмы до развития тяжелой бронхиальной астмы с микогенной сенсibilизацией и АБЛА [3,4]. В основе патогенеза АБЛА лежит хроническое аллергическое воспаление, в регуляции которого важную роль отводят растворимым медиатором, осуществляющим все взаимодействия между клетками иммунной системы. Своевременное выявление АБЛА необходимо для назначения адекватной противовоспалительной и антимикотической терапии. Лечение наиболее эффективно, если начато до развития бронхоэктазов и необратимого ухудшения функции дыхания. Следовательно, для врачей в клинической практике большой интерес представляет использование новых иммунологических биомаркеров для ранней диагностики АБЛА.

Цель исследования. Определить особенности регуляции иммунного ответа и выявить диагностические маркеры развития АБЛА у больных бронхиальной астмой.

Материалы и методы. В исследование включили 83 больных (медиана возраста – 47 лет, мужчин – 20, женщин – 63) тяжелой БА. Контрольную группу составили 16 условно здоровых людей, сопоставимых

по возрасту и полу, без аллергических заболеваний в анамнезе. Медиана возраста добровольцев составила 24 года (мужчин – 4, женщин – 12).

Обследование больных включало сбор анамнестических данных, а также оценку результатов общеклинических, лабораторных, инструментальных методов диагностики.

Уровень контроля симптомов и степень тяжести БА определяли в соответствии с критериями «Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы» (GINA, 2016). Микологическое исследование включало микроскопию и культуральное исследование образцов респираторных биосубстратов: мокрота, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ). Больным проводили кожное тестирование с 6 грибковыми аллергенами: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Candida* («Allergopharma», Германия, разрешение этического комитета СЗГМУ им. И. И. Мечникова от 24.06.2014). Методом иммуноферментного анализа определяли уровень общего IgE (ООО «Полигност», Россия) и специфических IgE (sIgE) к грибковым (панель биотинилированных аллергенов «АлкорБио», Россия) в сыворотке крови. Определение концентрации TARC («R&D Systems, США»), TSLP («R&D Systems, США»), IL-8 («Вектор-Бест», Россия) в сыворотке крови осуществляли с помощью иммуноферментных тест-систем. Для выявления микогенной сенсibilизации использовали критерий, предложенный международными экспертами ISHAM: положительный кожный прик-тест (≥ 3 мм) и/или выявление в сыворотке крови уровня специфического IgE к грибковому аллергену, соответствующего классу 1 и выше ($\geq 0,35$ Ед/мл) [4]. Диагноз аллергического бронхолегочного аспергиллеза (АБЛА) устанавливали на основании критериев R. Agarwal et al., 2013г. [5]. Полученные в процессе исследования данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA 10.

Результаты. В ходе исследования больные БА были разделены на следующие группы. Положительные результаты кожного тестирования и уровни sIgE к грибковым аллергенам выше диагностического значения (0,35 МЕ/мл) позволили выявить 25 больных тяжелой бронхиальной астмой с микогенной сенсibilизацией (БАМС). У 37 больных была определена тяжелая бронхиальная астма без микогенной сенсibilизации (БА). Согласно критериям R. Agarwal et al. у 21 больного установлен АБЛА.

Серологическое исследование установило, что у больных АБЛА абсолютное количество эозинофилов составило 0,52 (0,40÷1,09) 10⁹/л, а уровень общего IgE 2090 (1350 ÷ 2990) МЕ/мл. Эти показатели были достоверно выше по сравнению с показателями групп сравнения и контрольной группой ($p < 0,05$). Уровень sIgE к *A. fumigatus* колебался от 1,1 до 18,2 МЕ/мл. Высокие

значения данных показателей предполагают участие специфических к грибковым аллергенам Th2 в поддержании аллергического воспаления у больных АБЛА.

Клинико-иммунологические данные больных БАМС занимали промежуточное положение между больными БА и АБЛА. У больных БАМС течение астмы было неконтролируемое. Показатели функции внешнего дыхания ОФВ1, индекс Тиффно и значения АСТ были статистически значимо ниже, чем в группе больных БА, что позволяет говорить о более тяжелом течении заболевания.

Уровень общего IgE больных БАМС составил 252,0 (37,0÷804,0) МЕ/мл, количество эозинофилов периферической крови – 0,27 (0,17÷0,50) 10⁹/л. Эти показатели достоверно отличались от значений контрольной группы, но не от данных больных БА.

TSLP входит в семейство IL-7 цитокинов и является одним из наиболее важных медиаторов межклеточного взаимодействия при развитии аллергического воспаления [6]. Концентрация TSLP в сыворотке крови больных АБЛА составила 13,0 (9,70÷24,70) пг/мл, что сопоставимо с группами больных БАМС и БА. Анализ содержания TSLP в сыворотке крови не выявил статически значимых различий как в показателях между больными, так и по сравнению с контрольной группой. Полученные данные согласуются с результатами других исследований [1,7]. Для уточнения роли TSLP в формировании гиперчувствительности к грибам рода *Aspergillus* необходимо в дальнейшем использовать такие биологические субстраты, как индуцированная мокрота и БАЛ.

TARC является уникальным хемокином, который рекрутирует Th2-клетки посредством связывания с CC-хемокиновым рецептором 4 (CCR4) в очаг воспаления [8]. Уровни TARC существенно различались между разными группами пациентов. Самое высокое содержание TARC установлено у больных АБЛА 734 (599÷909) пг/мл. Этот показатель достоверно превышал значения больных БА 336 (208÷571) пг/мл и контрольной группой 224 (184÷265) пг/мл. Содержание TARC не различалось между собой у больных БАМС и БА, но было достоверно выше по отношению к показателям условно здоровых лиц ($p = 0,00$; $p = 0,02$). Повышенные уровни TARC обнаружены другими исследователями у больных муковисцидозом и АБЛА по сравнению с показателями в группах больных муковисцидозом с микогенной сенсibilизацией или колонизацией *A. fumigatus*. Длительное наблюдение за пациентами позволило авторам высказать предположение, что увеличение концентрации TARC в сыворотке крови может предшествовать развитию АБЛА среди больных муковисцидозом [9, 10].

Уровень IL-8 у больных АБЛА 35,0 (23,0÷49,0) пг/мл достоверно выше, чем у пациентов с БА и у практически здоровых лиц контрольной группы. Концентрация IL-8 не различалась между собой у больных БАМС

и БА, но была достоверно выше чем показатели контрольной группы ($p=0,00$; $p=0,00$). Корреляционный анализ подтвердил важное значение TARC в развитии аллергического воспаления и патогенетическую роль TARC в формировании Th2-ответа у больных АБЛА. Установлена прямая корреляционная связь уровня TARC с уровнями общего IgE ($r = 0,35$, $p<0,05$) и sIgE к *A.fumigatus* ($r = 0,39$, $p<0,05$), с абсолютным числом эозинофилов ($r = 0,30$, $p<0,05$) и обратная корреляционная связь с оценкой контроля бронхиальной астмы АСТ ($r = -0,31$, $p<0,05$) и ухудшением функции внешнего дыхания и ОФВ1 ($r = -0,44$, $p<0,05$).

Заключение. Своевременная диагностика и лечение АБЛА предотвращают прогрессирование аллергического воспаления и формирование тяжелого фиброза легких. Выявленное в ходе исследования повышение содержания TARC у больных АБЛА и его связь со степенью выраженности микогенной сенсибилизации и клиническими проявлениями заболевания позволяет рассматривать этот показатель в качестве биомаркера активной воспалительной реакции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Masaki K., Fukunaga K., Matsusaka M. et al. Characteristics of severe asthma with fungal sensitization. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2017 Sep; 119(3): 253-257.
2. Goh K.J., Yü A.C.A., Lapperre T.S. et al. Sensitization to *Aspergillus* species is associated with frequent exacerbations in severe asthma. *J. Asthma Allergy.* 2017 Apr 21; 10: 131-140.
3. Shah A., Paniabi C. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: A Perplexing Clinical Entity. *Allergy Asthma Immunology Res.* 2016 Jul; 8(4): 282-297.
4. Denning D.W., Pashley C., Hartl D. et al. Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. *Clin. Transl. Allergy.* 2014 Apr; 15;4:14.
5. Agarwal R.A., Chakrabarti A., Shah D. et al. For the ABPA complicating asthma ISHAM working group 2013. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clinical & Experimental Allergy.* 2013. 43: 850-873.
6. Wang Y.H., Liu Y.J. Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand, and interleukin-25 in allergic responses. *Clin. Exp. Allergy.* 2009 Jun; 39(6): 798-806.
7. Chai R., Liu B., Qi F. IL-31, IL-33, and TSLP expression and relation to severity of asthma and rhinitis in Chinese allergic patients. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2017; 10(2): 1774-1782.
8. Becerra-Díaz M., Wills-Karp M., Heller N.M. New perspectives on the regulation of type II inflammation in asthma. *F1000Res.* 2017 Jun 28;6:1014.
9. Hartl D., Latzin P., Zissel G. et al. Chemokines indicate allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 2006 Jun 15;173(12):1370-1376.
10. Latzin P., Hartl D., Regamey N. et al. Comparison of serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. *Eu.rRespir. J.* 2008; 31: 36-42.

АКТИВАЦИЯ КЛЕТОК КРОВИ ЛПС И DPE: РОЛЬ SMD-2 И P38 МАРК В РАЗВИТИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Косякова Н.И.

Радзюкевич Я.В., Морозова А.А., Прохоренко И.Р.

¹ ФГАУЗ БПНЦ РАН, Пушкино, Россия

² ОП ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пушкино, Россия

E-mail: nelia_kosiakova@mail.ru

ACTIVATION OF BLOOD CELLS BY LPS AND DPE: THE ROLE OF SMD-2 AND P38 MARK IN THE DEVELOPMENT OF ALLERGIC INFLAMMATION

Kosyakova N.I.¹, Radzyukovich Y.V.^{1,2}, Morozova A.A.^{1,2}, Prokhorenko I.R.^{1,2}

¹ Hospital of Pushchino Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia Federation

² PSCBR RAS Institute of Basic Biological Problems RAS, Pushchino, Russia Federation

Аэроаллергия является результатом неадекватного иммунного ответа на чужеродные антигены. В связи с глобальным распространением аллергической астмы

повышенное внимание уделяется механизму развития аллергического ответа и усиливающим этот эффект молекулам. Распространенная причина развития аллерги-