

РОЛЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ХЕМОКИНОВ В РАЗВИТИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

¹Козлова Я.И., ²Фролова Е.В., ²Учеваткина А.В., ²Филиппова Л.В., ¹Соболев А.В.,
¹Клишко Н.Н.

¹Кафедра клинической микологии, аллергологии и иммунологии, ²НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

ROLE OF PRO-INFLAMMATORY CHEMOKINES IN THE DEVELOPMENT OF ALLERGIC BRONCHOPULMONARY ASPERGILLOSIS IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

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

¹Department of clinical mycology, allergy and immunology, ²Kashkin Research Institute of Medical Mycology North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg

Резюме. Изучение роли различных иммунологических медиаторов в формировании хронического аллергического воспаления у больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом (АБЛА) необходимо для выявления возможных мишеней для терапевтического вмешательства и своевременной диагностики заболевания. Проведено обследование 13 больных АБЛА, 14 больных бронхиальной астмой с микогенной сенсибилизацией (БАМС), 17 больных бронхиальной астмой (БА) и 12 условно здоровых лиц. Содержание тимического стромального лимфопоэтина (Thymic stromal lymphopoietin; TSLP), тимус-ассоциированного регуляторного хемокина (Thymus and activation-regulated chemokine; TARC), IL-8, количество эозинофилов, уровни общего IgE и специфических IgE к *Aspergillus fumigatus* (*A.fumigatus*) определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом. В результате исследования установлены достоверно более высокие значения числа эозинофилов, уровней общего IgE и sIgE к *A. fumigatus*, а также TARC и IL-8 в сыворотке крови больных АБЛА по сравнению с больными БА. Не установлено различий в содержании TSLP между обследованными группами пациентов. Выявлена положительная корреляционная связь уровня sIgE к *A. fumigatus* с содержа-

нием TARC и IL-8, числом эозинофилов, а также уровнем общего IgE. Это подтверждает важное диагностическое значение показателей провоспалительных хемокинов у больных АБЛА.

Введение. Известно, что ингаляционные частицы микромицетов состоят из живых клеток и способны к росту и секреции аллергенов *in vivo*. *Aspergillus* spp. - один из основных источников аллергенов как в окружающей среде, так и внутри жилых и производственных помещений. Исследования последних лет установили связь грибковой сенсибилизации 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 БА до развития БАМС и АБЛА [3,4,5]. В основе патогенеза заболевания лежит хроническое аллергическое воспаление, в регуляции которого важную роль отводят растворимым медиатором, осуществляющим все взаимодействия между клетками иммунной системы [6,7]. 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 - изучение роли провоспалительных хемокинов в развитии аллергического бронхолегочного аспергиллеза у больных бронхиальной астмой.

Материалы и методы. В микологической клинике СЗГМУ им. И.И. Мечникова в Санкт-Петербурге проведено проспективное исследование 44 больных (медиана возраста – 43 года, мужчин – 9, женщин – 35) тяжелой БА. Контрольную группу составили 12 условно здоровых людей, сопоставимых по возрасту и полу, без аллергических заболеваний в анамнезе. Медиана возраста добровольцев составила 33 года (мужчин – 3, женщин – 9). Уровень контроля симптомов и степень тяжести БА определяли в соответствии с критериями «Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы» (GINA, 2016). При оценке контроля над симптомами БА ориентировались на жалобы, клинические проявления, данные спирометрии с проведением теста на обратимость. Также использовали опросник АСТ (Asthma Control Test), который является краткой и доступной анкетой, содержит 5 вопросов с 5-бальной оценкой ответов. Сумма 25 баллов означают полный контроль БА, 20-24 - неполный контроль, 19 баллов и меньше - указывает на отсутствие контроля. С помощью АСТ оценивали уровень контроля БА за последние 4 недели. 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 в соответствии с рекомендациями

фирмы-производителя. Концентрации анализов были рассчитаны по стандартным кривым и выражены в пг/мл. Для изучения функции внешнего дыхания использовали спирометрию методом выполнения петли «объем-поток» с компьютерной обработкой результатов исследования. Учитывали следующие показатели: объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), индекс Тиффно. По показаниям выполняли компьютерную томографию (КТ) легких в режиме высокого разрешения. 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., 2013 г. [8]. Полученные в процессе исследования данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA 10. Данные представляли в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го процентилей, Lq и Hq). Для оценки различий между независимыми выборками применяли непараметрический критерий Манна-Уитни Корреляции были проверены с помощью теста Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. В ходе исследования положительные результаты кожного тестирования и уровни sIgE к грибковым аллергенам выше диагностического значения (0,35 МЕ/мл) позволили выявить 14 больных БАМС. У 17 больных была определена тяжелая БА без микогенной сенсibilизации. Согласно критериям R. Agarwal et al. у 13 больных установлен АБЛА. У больных АБЛА абсолютное количество эозинофилов было 0,72 ($0,47 \div 0,96$) 10^9 /л, а уровни общего IgE и sIgE к *A. fumigatus* составили 1830 ($867 \div 2950$) МЕ/мл и 4,14 ($1,15 \div 6,97$) МЕ/мл соответственно. Эти показатели были достоверно выше по сравнению с показателями групп сравнения ($p < 0,05$). Высокие значения данных показателей подтверждает наличие персистирующего аллергического воспаления за счет активации Th2 типа иммунного ответа при развитии АБЛА. Анализ результатов

субъективных и объективных методов оценки контроля БА выявил достоверно самый низкий балл при заполнении анкеты АСТ и худшие показатели функции внешнего дыхания ФЖЕЛ и ОФВ1 в группе больных АБЛА. Клинико-иммунологические данные больных БАМС занимали промежуточное положение между больными БА и АБЛА. Показатель функции внешнего дыхания индекс Тиффно у больных БАМС были статистически значимо ниже, чем в группе больных БА ($p=0,034$), что позволяет говорить о более тяжелом течении заболевания. Уровень общего IgE больных БАМС составил 729,5 (232,0÷785,0) МЕ/мл, количество эозинофилов периферической крови - 0,37 (0,22÷0,62)109/л. Данные показатели не достигали значений больных АБЛА, но были в 1,9 и 2,8 раза выше, чем у больных тяжелой БА.

На следующем этапе мы провели исследование иммунологических медиаторов, участвующих в поддержании аллергического воспаления, и определили их связь со степенью выраженности микогенной сенсибилизации и клиническими проявлениями тяжести течения заболевания. Анализ содержания TSLP в сыворотке крови не выявил статически значимых различий как между больными АБЛА 12,0 (8,80÷24,70), БАМС 16,8 (9,7÷27,7), БА 22,8 (14,6÷31,8), так и данными контрольной группы 13,15 (9,05÷22,13) пг/мл. Однако, существенно повышена концентрация TARC у больных АБЛА 733,5 (540,0÷812,0) в сравнении с группой БА (429,1 (218,0÷571,3); $p=0,000$) и контролем (202,5 (195,9÷256,0); $p=0,000$) пг/мл. Установлена отрицательная корреляционная связь между уровнями TARC в сыворотке крови и ухудшением показателей функции внешнего дыхания (снижение ФЖЕЛ ($r = - 0,47$; $p<0,05$) и ОФВ1 ($r = - 0,41$; $p<0,05$), что предполагает патогенетическую роль TARC в формировании Th2-ответа у пациентов АБЛА. При этом у больных БАМС и БА содержание TARC не различалось между собой, но было достоверно выше по отношению к группе контроля ($p=0,00$; $p=0,02$). Продукция IL-8 у больных АБЛА 39,75 (28,35÷54,0) достоверно выше, чем у пациентов обеих групп и у практически здоровых лиц контрольной группы (4,79 (4,08÷10,04); $p=0,000$) пг/мл. Содержание IL-8 у больных БАМС 15,3 (12,30÷29,05)

занимало пограничное положение между показателями больных БА 14,35 (11,7÷21,0) пг/мл и АБЛА, но не достигало статистически значимых различий. Важное значение TARC и IL-8 в развитии аллергического воспаления у больных с микогенной сенсибилизацией подтверждено положительной корреляционной связью уровня sIgE к *A.fumigatus* с процентным и абсолютным числом эозинофилов ($r = 0,46$, $r = 0,45$, $p<0,05$), уровнем общего IgE ($r = 0,38$, $p<0,05$), содержанием TARC ($r = 0,48$, $p<0,05$) и IL-8 ($r = 0,55$, $p<0,05$).

Заключение. Своевременная диагностика и лечение АБЛА предотвращают прогрессирование аллергического воспаления и формирование тяжелого фиброза легких. Выявленное в ходе исследования повышение содержания TARC и IL-8 у больных АБЛА и их связь со степенью выраженности микогенной сенсибилизации и клиническими проявлениями заболевания позволяет рассматривать эти показатели в качестве биомаркеров активной воспалительной реакции. Кроме того, изменения концентрации TARC и IL-8 могут характеризовать степень контроля над течением заболевания и выступать критерием эффективности проводимой терапии.

Литература

1. Goh K.J., Yii A.C.A., Lapperre T.S. et al. Sensitization to *Aspergillus* species is associated with frequent exacerbations in severe asthma // J. Asthma Allergy. – 2017. – Vol. 10. – P. 131-140.
2. Masaki K., Fukunaga K., Matsusaka M. et al. Characteristics of severe asthma with fungal sensitization // Ann Allergy Asthma Immunol. – 2017. – Vol. 119, №3. – P. 253-257.
3. Клишко Н.Н., Козлова Я.И., Хостелиди С.Н. и др. Распространенность тяжелых и хронических микотических заболеваний в Российской Федерации по модели LIFE program // Проблемы медицинской микологии. – 2014. – № 1. – С.3-9.
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. – Vol. 15, № 4. – P.14.
5. Shah A., Paniabi C. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: A Perplexing Clinical Entity // Allergy Asthma Immunology Res – 2016. – Vol.8, №4. – 282-297.
6. Козлова Я.И., Соболев А.В., Фролова Е.В. и др. Аллергический бронхолегочный аспергиллез у

- больных бронхиальной астмой // Российский алергологический журнал. – 2015. – № 2. – С.37-46.
7. Hogan C., Denning D.W. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and related allergic syndromes // Semin. Respir. Crit. Care Med. – 2011. – Vol. 32, №6. – P.682-692.
8. 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. – Vol. 43. – P.850-873.

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ КРОВИ В ОТВЕТ НА МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНЫЕ ШТАММЫ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* У БОЛЬНЫХ ПОЛИПОЗНЫМ РИНОСИНУСИТОМ

Коленчукова О.А.^{1,2}, Лазарева А.М.¹, Смирнова С.В.¹, Сарматова Н.И.², Добрецов К.Г.³

¹ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера» обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН;

² Институт биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета Минобрнауки РФ;

³ Центр оториноларингологии ФГБУ Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России;

Полипозный риносинусит – это хроническое заболевание слизистой оболочки носа и околоносовых пазух, имеющее в основе патогенеза воспалительную реакцию, в которой в зависимости от формы воспаления могут доминировать эозинофилы или нейтрофилы [1]. Распространенность его в популяции достаточно велика. Колонизация золотистого стафилококка на слизистой оболочке носа приводит к образованию суперантигенного токсина, который усиливает местное эозинофильное воспаление и образование полипов [1,2,3]. Метициллинрезистентный стафилококк (MRSA) относится к бета-лактамазам расширенного спектра. Наиболее часто именно с ним связаны внутрибольничные (нозокомиальные) инфекции [4]. Известно, что уровень летальности при бактериемиях, вызываемых MRSA, выше, чем при инфекциях, обусловленных чувствительными штаммами. Вместе с тем установлено, что в процессе эволюции стафилококки приобрели способность к угнетению фагоцитарной функции лейкоцитов крови путем блокирования опсонизирующих веществ (комплемента и иммуноглобулина G), а также путем непосредственного токсического действия на фагоциты [5, 6, 7].

Фагоцитоз является одной из главных систем защиты организма от чужеродных агентов и играет важную роль при гнойно-воспалительных заболеваниях, особенно при стафилококковой инфекции. Активированные моноциты являются мощными эффекторами и запускают механизмы каскадных реакций, обеспечивающих развитие воспаления. Моноциты первыми мобилизуются в очаг воспаления и, от их фагоцитарной активности зависит элиминация возбудителя [1, 2, 3].

Несмотря на интенсивность исследований в данном направлении, остается все еще малоизученным весь спектр, происходящий внутриклеточных событий, связанных с изменением фенотипических характеристик и функционирования моноцитов при воздействии бактериальных агентов, в том числе чувствительных и резистентных к действию антибиотиков.

Целью исследования является оценка фагоцитарной активности моноцитов крови при воздействии метициллинрезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* относительно чувствительных штаммов у больных полипозным риносинуситом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили моноциты крови, выделенные у больных полипозным