

ЦИТОКИНЫ КАК БИОМАРКЕРЫ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ T₂-ЭНДОТИПЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

СКОРОХОДКИНА ОЛЕСЯ ВАЛЕРЬЕВНА, ORCID ID: 0000-0001-5793-5753; докт. мед. наук, профессор, зав. кафедрой клинической иммунологии с аллергологией ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Россия, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49, e-mail: olesya-27@rambler.ru

ХАКИМОВА МИЛЮША РАШИТОВНА, ORCID ID: 0000-0002-3533-2596; аспирант кафедры клинической иммунологии с аллергологией ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49, e-mail: mileushe7@gmail.com

ТИМЕРБУЛАТОВА ГЮЗЕЛЬ АБДУЛХАЛИМОВНА, ORCID ID: 0000-0002-2479-2474; ассистент кафедры гигиены, медицины труда ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49, e-mail: ragura@mail.ru

ФАТХУТДИНОВА ЛИЛИЯ МИНВАГИЗОВНА, ORCID ID: 0000-0001-9506-563X; докт. мед. наук, профессор, зав. кафедрой гигиены, медицины труда ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49, e-mail: liliya.fatkhutdinova@gmail.com

Реферат. Введение. Изучение патогенетических механизмов формирования эозинофильного воспаления при бронхиальной астме является основой для разработки индивидуального подхода к терапии заболевания.

Цель – исследовать уровень отдельных цитокинов: TSLP, IL-25, IL-33, IL-4, IL-5, IL-13 у пациентов с T₂-эндотипом бронхиальной астмы и провести сравнительную оценку указанных параметров при аллергическом и неаллергическом фенотипе заболевания. **Материал и методы.** Обследовано 53 пациента с бронхиальной астмой (от 18 до 65 лет; средний возраст – 41,6 года), из них 25 с аллергическим фенотипом заболевания (1-я группа) и 28 с неаллергическим (2-я группа). Уровень TSLP, IL-25, IL-33, IL-4, IL-5, IL-13 в сыворотке крови исследован методом мультиплексного анализа у 30 пациентов. Статистическая обработка выполнена с помощью пакета программ Microsoft Office Excel (2019). **Результаты и их обсуждение.** Приведены клинические особенности течения бронхиальной астмы у пациентов изучаемых групп. Высокий уровень абсолютного количества эозинофилов в периферической крови зафиксирован у пациентов обеих групп [(572,83±174,96) кл/мкл и (470,32±131,73) кл/мкл соответственно]. При этом прямая корреляционная связь между абсолютным количеством эозинофилов и уровнем IL-5 отмечалась в первую очередь у пациентов 1-й группы ($r_{xy}=+0,74$). Только у пациентов с аллергической бронхиальной астмой был выявлен повышенный уровень общего IgE в сыворотке крови [(274,55±53,90) МЕ/мл; $p<0,01$] и достоверно более высокий уровень IL-4 (344 пг/мл; $p<0,05$). Между указанными показателями выявлена прямая корреляционная связь ($r_{xy}=+0,52$). Значения IL-13 в обеих группах достоверно не различались. У пациентов 1-й группы наблюдался достоверно более высокий уровень TSLP и IL-25, значения IL-33 не отличались. При этом обнаружена прямая корреляционная связь между уровнями IL-33 и IL-13 ($r_{xy}=+0,53$), IL-33 и IL-5 ($r_{xy}=+0,65$) у пациентов 1-й группы и между уровнем IL-33 и IL-5 ($r_{xy}=+0,43$) во 2-й группе. **Выводы.** Различия в секреции изученных цитокинов с учетом клинической картины заболевания позволяют провести дифференциальную диагностику различных фенотипов бронхиальной астмы, относящихся к T₂-эндотипу заболевания, и обеспечить персонализированный подход к выбору терапии.

Ключевые слова: бронхиальная астма, эозинофильное воспаление, цитокины.

Для ссылки: Цитокины как биомаркеры эозинофильного воспаления при T₂-эндотипе бронхиальной астмы / О.В. Скороходкина, М.Р. Хакимова, Г.А. Тимербулатова, Л.М. Фатхутдинова // Вестник современной клинической медицины. – 2021. – Т. 14, вып. 6. – С. 68–75. DOI: 10.20969/VSKM.2021.14(6).68-75.

CYTOKINES AS BIOMARKERS OF EOSINOPHILIC INFLAMMATION IN T₂-ENDOTYPE OF BRONCHIAL ASTHMA

SKOROKHODKINA OLESYA V., ORCID ID: 0000-0001-5793-5753; D. Med. Sci., professor, the Head of the Department of clinical immunology and allergology of Kazan State Medical University, Russia, 420012, Kazan, Butlerov str., 49, e-mail: olesya-27@rambler.ru

KHAKIMOVA MILYAUSHA R., ORCID ID: 0000-0002-3533-2596; postgraduate student of the Department of clinical immunology and allergology of Kazan State Medical University, Russia, 420012, Kazan, Butlerov str., 49, e-mail: mileushe7@gmail.com

ТИМЕРБУЛАТОВА ГЮЗЕЛЬ А., ORCID ID: 0000-0002-2479-2474; assistant of professor of the Department of hygiene and occupational medicine of Kazan State Medical University, Russia, 420012, Kazan, Butlerov str., 49, e-mail: ragura@mail.com

ФАТХУТДИНОВА ЛИЛИЯ М., ORCID ID: 0000-0001-9506-563X; D. Med. Sci., professor, the Head of the Department of hygiene and occupational medicine of Kazan State Medical University, Russia, 420012, Kazan, Butlerov str., 49, e-mail: liliya.fatkhutdinova@gmail.com

Abstract. Introduction. The study of pathogenetic mechanisms of eosinophilic inflammation development in bronchial asthma is the basis for the development of an individual approach to the therapy of the disease. **Aim.** The aim of our research was to study the levels of individual cytokines: TSLP, IL-25, IL-33, IL-4, IL-5, IL-13 in patients with T₂-endotype bronchial asthma and to conduct a comparative assessment of these parameters in allergic and non-allergic phenotype of the disease. **Material and methods.** We examined 53 patients with bronchial asthma (18–65 years old; mean age, 41,6 years), including 25 with allergic (group 1) and 28 with nonallergic phenotype of the disease (group 2). The levels of TSLP, IL-25, IL-33, IL-4, IL-5, IL-13 in serum were investigated in 30 patients by multiplex analysis. Statistical processing was performed using Microsoft Office Excel software package (2019). **Results and discussion.** The clinical features of the course of bronchial asthma in the patients of the studied groups are presented. High level of absolute eosinophil

count in peripheral blood was registered in both groups of patients [(572,83±174,96) cells/ μ L and (470,32±131,73) cells/ μ L]. At the same time, a direct correlation between the absolute number of eosinophils and IL-5 level was observed primarily in group 1 patients ($r_{xy}=+0,74$). Only patients with allergic bronchial asthma had an elevated level of total serum IgE [(274,55±53,90) IU/ml; $p<0,01$] and a significantly higher level of IL-4 (344 pg/ml; $p<0,05$). A direct correlation ($r_{xy}=+0,52$) was detected between the above indices. IL-13 values did not differ significantly in both groups. The level of TSLP and IL-25 was significantly higher in the patients of the 1st group, while the IL-33 values did not differ significantly. At the same time a direct correlation between IL-33 and IL-13 levels ($r_{xy}=+0,53$), IL-33 and IL-5 ($r_{xy}=+0,65$) in group 1 patients, and between IL-33 and IL-5 levels ($r_{xy}=+0,43$) in group 2 patients was found. **Conclusion.** Differences in the secretion of the studied cytokines with regard to the clinical picture of the disease allow to make a differential diagnosis of different phenotypes of bronchial asthma belonging to the T_2 -endotype of the disease and to provide a personalized approach to the choice of therapy.

Key words: bronchial asthma, eosinophilic inflammation, cytokines.

For reference: Skorokhodkina OV, Khakimova MR, Timerbulatova GA, Fatkhutdinova LM. Cytokines as biomarkers of eosinophilic inflammation in T_2 -endotype of bronchial asthma. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2021; 14 (6): 68-75. DOI: 10.20969/VSKM.2021.14(6).68-75.

Современные представления о механизмах формирования воспаления при бронхиальной астме (БА) позволяют рассматривать ее как гетерогенное заболевание, проявляющееся различными фенотипами, многие из которых можно выделить в клинической практике. При этом под фенотипами БА понимаются узнаваемые кластеры демографических, клинических и/или патофизиологических характеристик БА, которые являются результатом взаимодействия генов пациента с окружающей средой [1, 2]. Таким образом, в настоящее время выделяют несколько фенотипов БА: аллергическая, неаллергическая, БА с поздним дебютом, БА у лиц с ожирением и БА у лиц с фиксированной обструкцией дыхательных путей [3]. Однако фенотипы бронхиальной астмы не всегда дают представления о подлежащих патогенетических механизмах. Эти механизмы лучше всего описываются эндотипами заболеваний. Эндотип заболевания – это молекулярная основа фенотипов, определяемая уникальными функциональными или патофизиологическими механизмами. В настоящее время в зависимости от характера воспаления, развивающегося в слизистой оболочке бронхов, различают T_2 -эндотип БА, при котором формируется эозинофильный тип воспаления, не- T_2 -эндотип характеризуется нейтрофильным, малогранулоцитарным типами воспаления [1, 2]. При этом более чем у половины пациентов с БА наблюдается T_2 -эндотип заболевания, в формировании которого принимают участие клетки как адаптивного (Th_2 -лимфоциты), так и врожденного (ILC2-клетки) иммунитета. Известно, что аллергены, попадая на эпителий слизистых дыхательных путей, индуцируют синтез тимического стромального лимфопоэтина (TSLP), IL-25, IL-33 и развитие гуморального иммунного ответа с активацией Th_2 -лимфоцитов, которые синтезируют в последующем IL-4, IL-13 и IL-5. В свою очередь, неспецифические агенты, такие как табачный дым, поллютанты, микроорганизмы, продукты их жизнедеятельности также приводят к выработке аларминов, но активируют преимущественно систему врожденного иммунитета – врожденные лимфоидные клетки 2-го типа. При этом ILC2-клетки синтезируют схожий спектр цитокинов (IL-13, IL-5). В результате формируется эозинофильное воспаление [4, 5].

Таким образом, эозинофилы являются ведущими клетками, ответственными за воспалительные

изменения, формирование фиброза и ремоделирование в нижних дыхательных путях. Перечисленные эффекторные свойства реализуются за счет белков, содержащихся в гранулах (основной протеин, эозинофильный катионный белок, эозинофильная пероксидаза, эозинофильный нейротоксин), цитокинов и факторов роста, таких как IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18, TGF- α/β , хемокины (RANTES, эотаксин-1) и липидные медиаторы [6, 7, 8].

Общепризнанно, что выделение фенотипов/эндотипов БА способствует лучшему пониманию сущности заболевания и целесообразно для разработки индивидуального подхода к терапии. В связи с этим в реальной клинической практике принципиально важным является выделение биомаркеров эозинофильного воспаления. Биомаркер является измеримым показателем, который дает возможность оценить нормальные или патологические биологические процессы, или оценить фармакологический ответ на терапевтическое вмешательство [9, 10, 11]. В настоящее время выделяют целый ряд маркеров эозинофильного воспаления: подсчет абсолютного количества эозинофилов периферической крови и индуцированной мокроты, исследование уровня сывороточного IgE, определение уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе, периостина и дипептидилпептидазы 4 (ДПП-4) в сыворотке крови пациентов с БА и др. [12, 13, 14]. Кроме того, результаты проведенных исследований последних лет позволили выделить в качестве биомаркеров эозинофильного воспаления и ряд ключевых цитокинов [4, 15]. Как отмечалось ранее, аллергены, вирусы, табачный дым и поллютанты, повреждая эпителий дыхательных путей, приводят к высвобождению аларминов (TSLP, IL-25, IL-33), которые активируют Th_2 -опосредованный гуморальный иммунный ответ и/или ILC2-клетки и способствуют синтезу соответствующих цитокинов (IL-4, IL-13 и IL-5). Таким образом, эффекторные свойства цитокинов приводят к активации различных типов клеток: Т- и В-лимфоцитов, тучных клеток, эозинофилов и др. Так, IL-5 играет значимую роль в дифференцировке, созревании, миграции и активации эозинофилов. Кроме того, IL-5 ингибирует апоптоз эозинофилов [4, 16]. В свою очередь, IL-4 вызывает пролиферацию В-лимфоцитов, переключение синтеза тяжелых цепей IgM на IgE, дифференцировку наивных Т-клеток в Th_2 -лимфоциты. Наконец, IL-13,

синтезируемый в одинаковой степени активированными Th₂-лимфоцитами и ILC2-клетками, участвует в дифференцировке бокаловидных клеток, стимулирует повышенную секрецию слизи, активирует фибробласты, что приводит к ремоделированию бронхов и усиливает бронхиальную гиперреактивность. Кроме того, IL-13 вызывает продукцию зотаксина, ответственного за привлечение эозинофилов в ткани [17, 18].

Таким образом, цитокины играют ключевую роль в формировании эозинофильного воспаления как при аллергическом, так и при неаллергическом фенотипе БА, а дальнейшее изучение их роли в качестве биомаркеров T₂-эндотипа БА представляется весьма актуальным [13, 19, 20].

Цель – исследовать уровень отдельных цитокинов (TSLP, IL-25, IL-33, IL-4, IL-5, IL-13) у пациентов с T₂-эндотипом бронхиальной астмы и провести сравнительную оценку указанных параметров при аллергическом и неаллергическом фенотипе БА.

Материал и методы. На базе Республиканского центра клинической иммунологии ГАУЗ РКБ МЗ РТ (г. Казань) нами проведено обследование 53 пациентов (мужчин – 16, женщин – 37) в возрасте от 18 до 65 лет (средний возраст – 41,6 года) с T₂-эндотипом бронхиальной астмы среднетяжелого и тяжелого течения. Диагноз БА был установлен на основании проведенного обследования, предусмотренного стандартами диагностики заболевания, и включало общеклинические методы исследования: анализ данных анамнеза, лабораторные и инструментальные методы исследования (общий анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы и абсолютного числа эозинофилов, исследование функции внешнего дыхания с проведением теста с бронхолитиком). Кроме того, всем пациентам было проведено аллергологическое обследование, включающее анализ данных аллергологического анамнеза, кожное тестирование со стандартными неинфекционными аллергенами скарификационным методом, исследование IgE общего и специфических методом иммуноферментного анализа. Уровень контроля БА оценивали с помощью теста по контролю над астмой (Asthma Control Test, АСТ), где 25 баллов соответствовало контролируемой БА, 21–24 балла – частично контролируемой и менее 20 баллов – неконтролируемой БА. Наряду с этим при наличии показаний осуществлялись консультации смежных специалистов (оториноларинголога, пульмонолога). Перед проведением исследования у всех пациентов было получено информированное согласие.

Таким образом, по результатам проведенного обследования нами были сформированы 2 группы. В 1-ю группу вошли 25 пациентов с фенотипом аллергической БА, 2-ю группу (28 человек) составили пациенты с фенотипом неаллергической БА. Одновременно 15 пациентам из каждой группы было проведено исследование уровня TSLP, IL-33, IL-25, IL-4, IL-5, IL-13 в сыворотке крови методом мультиплексного анализа [MILLIPLIX MAP Human TH17 Magnetic Bead Panel – Immunology Multiplex Assay, MILLIPLIX MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel II – Immunology Multiplex Assay, MILLIPLIX

MAP Human Cardiovascular Disease Magnetic Bead Panel 6 – Cardiovascular Disease (CVD) Immunology Multiplex Assay (Merck, Germany)].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета программ Microsoft Office Excel (2019) с определением среднего арифметического значения (M), стандартного отклонения (SD), коэффициентов корреляции между изученными показателями (r). Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ полученных результатов показал, что у всех пациентов 1-й группы согласно данным анамнеза отмечалось раннее начало заболевания: средний возраст пациентов на момент дебюта БА составлял 21,56 года, у 60% больных (15 человек) прослеживалась отягощенная наследственность по развитию атопических заболеваний (табл. 1).

Следует отметить, что у 22 (88%) пациентов обсуждаемой группы диагноз БА был установлен ранее, у 3 (32%) – верифицирован впервые. При этом течение средней степени тяжести было диагностировано у 19 (76%) пациентов, тяжелое течение заболевания – у 6 (24%).

По поводу установленного диагноза БА на момент осмотра только 14 (56,0%) пациентов получали базисную противовоспалительную терапию ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС) в комбинации с длительно действующими β₂-адреномиметиками (ДДБА). Из них 9 (64,3%) пациентов использовали низкие дозы ИГКС, а 5 (35,7%) пациентов – средние или высокие дозы. Дополнительно к данным препаратам один пациент ежедневно принимал системные глюкокортикостероиды (ГКС) – преднизолон *per os* в дозе 10 мг в сут, а еще один – монтелукаст в стандартной терапевтической дозировке. Однако, несмотря на проводимую терапию, только у одного (7,1%) пациента БА оценивалась как контролируемая (25 баллов), у 4 (28,6%) пациентов наблюдалось частично контролируемое течение заболевания (23 балла), а 9 (64,3%) пациентов имели неконтролируемую БА (16 баллов). Закономерно, что проведенное исследование ФВД на момент осмотра выявило наличие обструктивных нарушений практически у половины наблюдаемых пациентов: у 12 (48%) человек было зафиксировано снижение ОФВ₁ менее 80% от должных величин (минимальный показатель составил 56%), из них 4 пациента не получали базисную противовоспалительную терапию. Кроме того, у 4 (16%) пациентов 1-й группы были зафиксированы обострения, требующие назначения системных ГКС в предшествующий наблюдению год. Число госпитализаций в связи с тяжелым обострением составило 6 эпизодов.

Одновременно всем пациентам 1-й группы нами было проведено обследование в аллергологическом кабинете. Анализ полученных результатов показал, что у всех пациентов указанной группы выявлена клинически значимая сенсibilизация. При этом моносенсibilизация была установлена у 9 (36%) пациентов, из них у 8 (32%) пациентов – к бытовым аллергенам и у 1 (4%) – к аллергенам пыльцы рас-

Характеристика пациентов с аллергическим и неаллергическим фенотипом БА

Table 1

Characteristics of patients with allergic and nonallergic phenotype of BA

Показатель	Аллергическая БА (n=25)	Неаллергическая БА (n=28)
Возраст на момент дебюта заболевания, годы	20,2±4,85 (SD=13,7)	49±6,04 (SD=8,5)
Наследственная отягощенность по атопии	Отягощена	Не отягощена
Наличие сенсibilизации	Имеется	Отсутствует
Базисная терапия (ИГКС+ДДБА)	14 (56,0%)	20 (71,4%)
Уровень контроля:		
1. Контролируемая БА	1 (7,1%)	10 (35,7%)
2. Частично-контролируемая БА	4 (28,6%)	3 (15%)
3. Неконтролируемая БА	9 (64,3%)	13 (65%)
Уровень IgE общ., МЕ/мл	274,55±53,90	77,08±13,46
Абсолютное количество эозинофилов, кл/мкл	572,83±174,96	470,32±131,73
Количество пациентов с ОФВ ₁ <80% от должных величин	12 (48%)	17 (60,7%)
Количество пациентов, у которых зафиксированы обострения за предшествующий год, требующие назначения системных ГКС	4 (16%)	9 (32,1%)
Количество пациентов, госпитализированных в связи с тяжелым обострением БА за предшествующий год	6 (24%)	9 (32,1%)

тений. У большинства же пациентов (16 человек; 64,0%) имела место сочетанная сенсibilизация и полиаллергия. Так, у 5 (20%) пациентов нами была зафиксирована сенсibilизация к бытовым и пыльцевым аллергенам, аналогичное количество пациентов (5 человек; 20,0%) имели сенсibilизацию к бытовым, пыльцевым и эпидермальным аллергенам. У 4 (16,0%) пациентов наблюдалась сенсibilизация к бытовым и эпидермальным аллергенам и столько же пациентов (4 человека; 16,0%) имели сенсibilизацию к группе бытовых аллергенов и аллергенам плесневых грибов. Наконец, у 1 (4,0%) пациента наблюдалась сенсibilизация к бытовым, эпидермальным, пыльцевым и пищевым аллергенам. Наличие сенсibilизации было подтверждено и лабораторными методами исследования. У всех пациентов 1-й группы нами были выявлены повышенные значения уровня IgE общего в сыворотке крови, средний уровень которого составил (274,55±53,90) МЕ/мл. При этом результаты исследования ОАК у пациентов указанной группы выявили повышенный уровень абсолютного количества эозинофилов в периферической крови до (572,83±174,96) кл/мкл, что подтверждало эозинофильный генез формирования воспаления.

Важно отметить, что у большинства пациентов 1-й группы (19 человек; 76,0%) было выявлено сочетание БА с другими аллергическими заболеваниями. Так, в структуре коморбидной патологии превалировал аллергический ринит (АР), который был диагностирован у 18 (72,0%) пациентов, из них у 4 пациентов – в сочетании с аллергическим конъюнктивитом (АК). У 1 (4,0%) пациента нами был установлен изолированный АК, а у 8,0% пациентов в анамнезе имела место перенесенная крапивница/ангиоотек.

Таким образом, результаты проведенного аллергологического обследования позволили отнести пациентов обсуждаемой группы к аллергическому фенотипу БА, а высокий уровень IgE общего и эози-

нофилии периферической крови свидетельствовали о T₂-эндотипе заболевания.

В отличие от пациентов 1-й группы, у всех пациентов 2-й группы отмечался поздний дебют БА. Так, средний возраст на момент начала заболевания составил 44,5 года. При этом у 21 (75%) пациента диагноз БА был установлен ранее, 7 (25%) пациентам диагноз БА был установлен нами впервые. Кроме того, при анализе истории заболевания обращает внимание более тяжелое течение БА у значительного количества пациентов, практически с момента ее дебюта. Так, тяжелое течение БА наблюдалось у 46,4% больных (13 человек), в то время как у пациентов 1-й группы этот показатель не превышал 24% (6 человек). У остальных пациентов (15 человек; 53,6%) диагностировано течение средней степени тяжести. Следует отметить, что и количество больных, у которых были зафиксированы обострения БА, требующие назначения системных ГКС, также было существенно выше, чем у пациентов с аллергическим фенотипом БА (9 человек; 32,1% и 4 человека; 16% соответственно), что чаще требовало лечения в условиях стационара. Необходимость госпитализаций в связи с тяжелым обострением БА наблюдалось у 9 (32,1%) больных, что также значимо выше, чем у пациентов с аллергическим фенотипом БА (6 пациентов; 24%).

По поводу установленного диагноза БА, к сожалению, только 20 (71,4%) пациентов получали базисную противовоспалительную терапию ИГКС в комбинации с ДДБА. При этом в связи с выраженной степенью тяжести заболевания большинство пациентов данной группы принимали средние или высокие дозы ИГКС (14 человек; 70,0%). Кроме того, 5 (25,0%) пациентам требовалось дополнительное назначение антилейкотриеновых препаратов или тиотропия бромида, а 7 (35,0%) больным в связи с отсутствием контроля БА возникла необходимость назначения системных ГКС. Таким образом, объем медикаментозной терапии у пациентов 2-й группы

был практически максимальным и соответствовал 4–5-й ступеням терапии по GINA [10]. Тем не менее контроль БА наблюдался только у 10 (35,7%) пациентов. У 3 (15,0%) пациентов имело место частично контролируемое течение заболевания (21 балл), а у подавляющего количества пациентов (13 пациентов; 65,0%) БА оставалась неконтролируемой (15 баллов), что подтверждалось показателями ФВД. Так, по данным спирометрии у 17 (60,7%) пациентов указанной группы отмечалось снижение ОФВ₁ менее 80% от должных величин (минимальный показатель составил 50,0%).

Следует отметить, что на отсутствие контроля БА в определенной мере может оказывать влияние и наличие сопутствующих заболеваний. Так, у 11 (39,3%) пациентов по результатам проведенного обследования был диагностирован хронический полипозный риносинусит, при этом в 5 (17,9%) случаях отмечалось его сочетание с непереносимостью нестероидных противовоспалительных средств (НПВС).

Далее, аналогично пациентам 1-й группы и всем пациентам 2-й группы нами было проведено специфическое аллергологическое обследование. Однако, в отличие от пациентов с аллергическим фенотипом БА, клинически значимой сенсibilизации у пациентов 2-й группы выявлено не было. Средний уровень общего IgE в сыворотке крови у пациентов обсуждаемой группы также соответствовал нормальным значениям [(75,25±13,46) МЕ/мл] и был достоверно ниже, чем у пациентов 1-й группы [(274,55±53,90) МЕ/мл; $p < 0,01$]. При этом абсолютное количество эозинофилов в периферической крови было повышенным [(470,32±131,73) кл/мкл], что свидетельствовало об эозинофильном генезе воспаления.

Таким образом, особенности клинических проявлений БА, высокий уровень эозинофилии периферической крови у пациентов 2-й группы позволяют их отнести к T₂-эндотипу БА, а отрицательные результаты аллергологического обследования и нормальные значения уровня общего IgE свидетельствуют о неаллергическом фенотипе заболевания.

Однако наряду с перечисленными маркерами эозинофильного воспаления важное значение имеют и цитокины, играющие ключевую роль в патогенезе заболевания и обеспечивающие регуляцию механизмов как врожденного, так и адаптивного иммунитета. В связи с этим следующим этапом нашей работы явилось исследование уровня отдельных

цитокинов (IL-4, IL-5, IL-13, IL-33, IL-25, TSLP) в периферической крови 30 пациентов с T₂-эндотипом БА, из них 15 пациентов имели фенотип аллергической БА и 15 – фенотип неаллергической БА.

Анализ полученных результатов показал, что только у пациентов 1-й группы нами было обнаружено значимое повышение уровня IL-4 до 344 пг/мл, что достоверно выше уровня указанного показателя у пациентов 2-й группы, значения которого не превышали 92,67 пг/мл ($p < 0,05$) (табл. 2).

При этом нами была выявлена прямая корреляционная связь средней силы между уровнем IL-4 и общего IgE в сыворотке крови пациентов с аллергической БА ($r_{xy} = +0,52$) (рис. 1).

Полученные нами результаты в целом соответствуют концепции патогенеза формирования эозинофильного воспаления при аллергическом фенотипе БА, так как именно IL-4 способствует переключению синтеза тяжелых цепей IgM на IgE и дифференцировке Th₂-лимфоцитов.

Эозинофильный генез воспаления у пациентов 1-й группы был подтвержден также и высоким уровнем эозинофилов периферической крови [(550,89+254,34) кл/мкл]. Следует отметить, что аналогично высокие показатели эозинофилии наблюдались и у пациентов 2-й группы [(616,88+224,70) кл/мкл]. При этом известно, что ключевым цитокином, способствующим привлечению эозинофилов в слизистые дыхательных путей является IL-5, синтези-

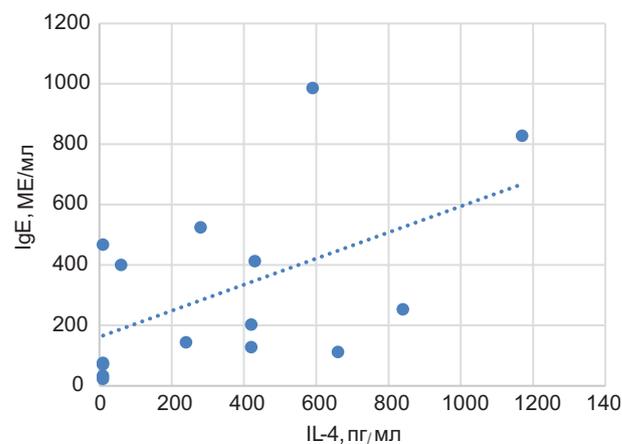


Рис. 1. Корреляционная связь между уровнем IL-4 и общего IgE в сыворотке крови пациентов с аллергической БА ($r_{xy} = +0,52$)

Fig. 1. Correlation between IL-4 and total IgE levels in serum of patients with allergic BA ($r_{xy} = +0,52$)

Таблица 2

Средний уровень изученных цитокинов в периферической крови у пациентов с аллергической и неаллергической БА

Table 2

Mean peripheral blood levels of the cytokines studied in patients with allergic and nonallergic BA

Показатель	Аллергическая БА (n=15)	Неаллергическая БА (n=15)	p
TSLP, пг/мл	39,74	2,61	<0,001
IL-25, пг/мл	212,67	152,67	<0,05
IL-33, пг/мл	27,92	16,48	>0,05
IL-4, пг/мл	344,00	92,67	<0,05
IL-5, пг/мл	8,72	4,86	<0,05
IL-13, пг/мл	355,84	291,14	>0,05

руемый активированными Th₂-лимфоцитами и/или ILC2 [17, 19]. Однако в нашем исследовании прямая высокая силы корреляционная связь между уровнем IL-5 и абсолютным количеством эозинофилов периферической крови была установлена в первую очередь у пациентов с аллергическим фенотипом БА ($r_{xy}=+0,74$) (рис. 2).

Важное значение в формировании эозинофильного воспаления играет IL-13, который, реализуя свои биологические эффекты, вызывает гиперплазию бокаловидных клеток, активирует фибробласты и приводит к ремоделированию дыхательных путей, вызывает гиперреактивность бронхов [20]. В нашем исследовании уровень IL-13 был высоким и достоверно не отличался у пациентов обеих групп (355,8 пг/мл и 291,1 пг/мл соответственно; $p>0,05$).

Особый интерес представляет изучение уровня аларминов, которые синтезируются эпителиальными клетками дыхательных путей под воздействием как специфических (аллергены), так и неспецифических (поллютанты, табачный дым, микроорганизмы и др.) стимулов [3, 4]. Результаты наших исследований показали, что содержание TSLP и IL-25 в сыворотке крови было достоверно выше у пациентов с аллергической БА. Так, уровень TSLP у пациентов с аллергическим фенотипом заболевания соответствовал 39,4 пг/мл, в то время как у пациентов с неаллергической эозинофильной БА этот показатель не превышал 2,61 пг/мл ($p<0,001$). Аналогичные тенденции наблюдались и при анализе показателя IL-25, значения которого у пациентов с аллергической БА составляли 212,7 пг/мл, что также достоверно выше, чем у пациентов с неаллергическим фенотипом заболевания (152,7 пг/мл; $p<0,05$). Достоверных различий уровня IL-33 у пациентов 1-й и 2-й групп в нашем исследовании выявить не удалось (см. табл. 1). При этом проведение корреляционного анализа позволило выявить наличие прямой средней силы связи между уровнями IL-33 и IL-13 ($r_{xy}=+0,53$), а также IL-33 и IL-5 ($r_{xy}=+0,65$) в группе пациентов с аллергической БА (рис. 3).

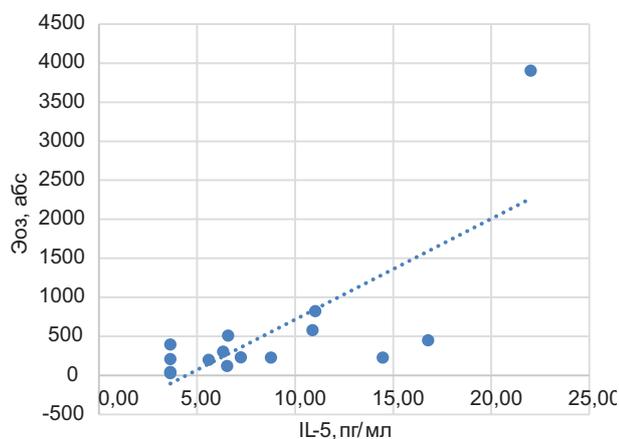


Рис. 2. Корреляционная связь между содержанием IL-5 и абсолютным количеством эозинофилов у пациентов с аллергической БА ($r_{xy}=+0,74$)

Fig. 2. Correlation between IL-5 content and absolute number of eosinophils in patients with allergic BA ($r_{xy}=+0,74$)

В целом аналогичные данные были получены и в отношении пациентов с неаллергическим фенотипом БА, у которых наличие прямой средней силы связи было выявлено между уровнем IL-33 и IL-5 ($r_{xy}=+0,43$) (рис. 4).

Следует отметить, что полученные данные соответствуют современным представлениям о патогенезе формирования эозинофильного воспаления как при аллергическом, так и неаллергическом фенотипе БА. Как известно, IL-33 стимулирует к высвобождению IL-5 и IL-13 как Th₂-клетки, так и врожденные лимфоидные клетки 2-го типа [20, 21].

Выводы. Таким образом, совокупность представленных данных свидетельствует о том, что формирование эозинофильного воспаления при T₂-эндотипе БА является сложным многоступенчатым процессом, в индукции которого принимают участие клетки как врожденного, так и адаптивного иммунитета, синтезирующие характерный спектр цитокинов. Полученные различия в секреции обсуждаемых цитокинов с учетом представленных особенностей клинической картины заболевания позволяют более точно провести дифференциальную диагностику различных фенотипов БА, относящихся

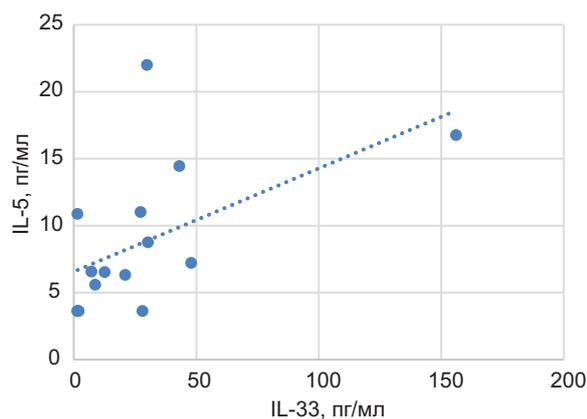


Рис. 3. Корреляционная связь между уровнем IL-33 и IL-5 у пациентов с аллергической БА ($r_{xy}=+0,65$)
Fig. 3. Correlation between IL-33 and IL-5 levels in patients with allergic BA ($r_{xy}=+0,65$)

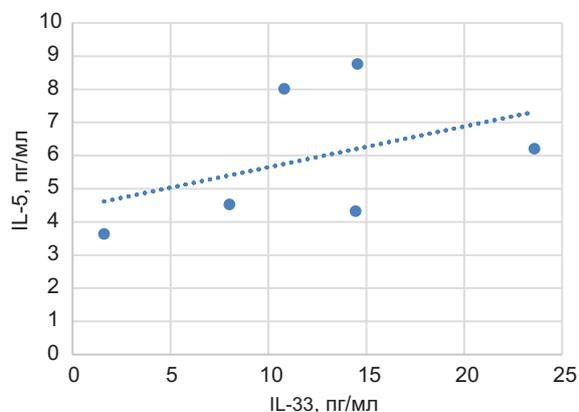


Рис. 4. Корреляционная связь между уровнем IL-33 и IL-5 у пациентов с неаллергической БА ($r_{xy}=+0,43$)
Fig. 4. Correlation between IL-33 and IL-5 levels in patients with nonallergic BA ($r_{xy}=+0,43$)

к T₂-эндотипу заболевания, что в свою очередь позволит обеспечить персонализированный подход к выбору терапии БА, включая назначение таргетной терапии заболевания с применением генно-инженерных средств биологической терапии.

Прозрачность исследования. Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта 19-05-50094. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. **Acknowledgments:** The reported study was funded by RFBR, project number 19-05-50094.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Все авторы принимали участие в разработке концепции, дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

ЛИТЕРАТУРА

- GINA Pocket Guide. Diagnosis and Management of Difficult-to-treat and Severe Asthma in adolescent and adult patients. V3.0, April 2021. – URL: <https://ginasthma.org/severeasthma/>
- Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications / D. Robinson, M. Humbert, R. Buhl [et al.] // Clin Exp Allergy. – 2017. – Vol. 47, № 2. – P.161–175. DOI: 10.1111/cea.12880.
- Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы. – Москва: Российское респираторное общество, Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов, 2019. – URL: https://spulmo.ru/upload/kr_bronhastma_2019.pdf
- Molecular Targets for Biological Therapies of Severe Asthma / C. Pelaia, C. Crimi, A. Vatrella [et al.] // Front. Immunol. – 2020. – Vol. 11. – P.603312. DOI: 10.3389/fimmu.2020.603312.
- Mechanisms and biomarkers of airway epithelial cell damage in asthma: A review / Y. Yang, M. Jia, Y. Ou [et al.] // Clin. Respir. J. – 2021. – Jun 7. DOI: 10.1111/crj.13407.
- Blanchard, C. Biology of the eosinophil / C. Blanchard, M.E. Rothenberg // Adv. Immunol. – 2009. – Vol. 101. – P.81–121. DOI: 10.1016/S0065-2776(08)01003-1.
- Ненашева, Н.А. Тяжелая эозинофильная бронхиальная астма: новые возможности терапии / Н.А. Ненашева // Медицинский совет. – 2018. – № 15. – С.44–52. DOI: 10.21518/2079-701X-2018-15-44-52.
- Immunologic mechanisms in asthma / T. Boonpiyathad, Z.C. Sözen, P. Satitsuksanoa, C.A. Akdis // Semin Immunol. – 2019. – Vol. 46. – P.101333. DOI: 10.1016/j.smim.2019.101333.
- Ненашева, Н.М. Терапия бронхиальной астмы, основанная на биомаркерах / Н.М. Ненашева // Практическая пульмонология. – 2018. – № 4. – С.3–11.
- Chung, K.F. Personalised medicine in asthma: time for action: Number 1 in the Series «Personalised medicine in respiratory diseases» Edited by Renaud Louis and Nicolas / K.F. Chung // Roche. Eur. Respir. Rev. – 2017. – Vol. 26, № 145. – P.170064.
- The current and future role of biomarkers in type 2 cytokine-mediated asthma management / I.D. Pavord, S. Afzalnia, A. Menzies-Gow, L.G. Heaney // Clinical & Experimental Allergy. – 2017. – Vol. 47, № 2. – P.148–60. DOI: 10.1111/cea.12881.
- Role of Biologics in Asthma / M.C. McGregor, J.G. Krings, P. Nair, M. Castro // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2019. –

Vol. 199, № 4. – P.433–445. DOI:10.1164/rccm.201810-1944CI.

- European Academy of Allergy and Clinical Immunology. Global Atlas of Asthma, 2021. – URL: www.eaaci.org
- Peters, M.C. Biomarkers of Airway Type-2 Inflammation and Integrating Complex Phenotypes to Endotypes in Asthma / M.C. Peters, M.L. Nguyen, E.M. Dunican // Curr. Allergy Asthma Rep. – 2016. – Vol. 16, № 10. – P.71. DOI: 10.1007/s11882-016-0651-4.
- Toward clinically applicable biomarkers for asthma: An EAACI position paper / Z. Diamant, S. Vijverberg, K. Alving [et al.] // Allergy. – 2019. – Vol. 74, № 10. – P.1835–1851. DOI: 10.1111/all.13806.
- Lambrecht, B.N. The immunology of asthma / B.N. Lambrecht, H. Hammad // Nat. Immunol. – 2015. – Vol. 16, № 1. – P.45–56. DOI:10.1038/ni.3049.
- Ненашева, Н.М. T₂-бронхиальная астма: характеристика эндотипа и биомаркеры / Н.М. Ненашева // Пульмонология. – 2019. – Т. 29, № 2. – С.216–228. DOI: 10.18093/0869-0189-2019-29-2-216-228.
- Дупилумаб: новые возможности в терапии бронхиальной астмы и полипозного риносинусита / М.Е. Дынева, Г.Э. Аминова, О.М. Курбачева, Н.И. Ильина // Российский аллергологический журнал. – 2021. – Т. 18, № 1. – С.18–31. DOI: <https://doi.org/10.36691/RJA1408>.
- Advances and recent developments in asthma in 2020 / L. Cevhertas, I. Ogulur, D.J. Maurer [et al.] // Allergy. – 2020. – Vol. 75, № 12. – P.3124–3146. DOI:10.1111/all.14607.
- Симбирцев, А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека / А.С. Симбирцев. – Санкт-Петербург: Фолиант, 2018. – 512 с.
- Галицкая, М.А. Современные представления о роли врожденного и приобретенного иммунитета при бронхиальной астме / М.А. Галицкая, О.М. Курбачева // Российский аллергологический журнал. – 2018. – Т. 15, № 6. – С.7–17. DOI: 10.36691/RJA87.

REFERENCES

- GINA Pocket Guide. Diagnosis and Management of Difficult-to-treat and Severe Asthma in adolescent and adult patients, V3. 2021. Available from <https://ginasthma.org/severeasthma/>
- Robinson D, Humbert M, Buhl R, et al. Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications. Clin Exp Allergy. 2017;47(2):161-175. doi:10.1111/cea.12880
- Rossiiskoe respiratornoe obshchestvo, Rossiiskaya associaciya allergologov i klinicheskikh immunologov [Russian Respiratory Society, Russian Association of Allergy and Clinical Immunology]. Federal'nye klinicheskie rekomendacii po diagnostike i lecheniyu bronhial'noj astmy [Federal clinical guidelines for diagnosis and management of bronchial asthma]. Moskva [Moscow]. 2019. Available from: https://spulmo.ru/upload/kr_bronhastma_2019.pdf.
- Pelaia C, Crimi C, Vatrella A, Tinello C, Terracciano R, Pelaia G. Molecular Targets for Biological Therapies of Severe Asthma. Front Immunol. 2020; 11: 603312. DOI: 10.3389/fimmu.2020.603312
- Yang Y, Jia M, Ou Y, Adcock IM, Yao X. Mechanisms and biomarkers of airway epithelial cell damage in asthma: A review. Clin Respir J. 2021; 15 (10): 1027-1045. DOI: 10.1111/crj.13407.
- Blanchard C, Rothenberg ME. Biology of the eosinophil. Adv Immunol. 2009; 101: 81-121. DOI: 10.1016/S0065-2776(08)01003-1
- Nenasheva NM. Tyazhelaya eozinofil'naya bronhial'naya astma: novye vozmozhnosti terapii [Severe eosinophilic

- bronchial asthma: new therapeutic options]. Meditsinskiy sovet [Medical Council]. 2018; 15: 44-52. DOI: 10.21518/2079-701X-2018-15-44-52
8. Boonpiyathad T, Sözen ZC, Satitsuksanoa P, Akdis CA. Immunologic mechanisms in asthma. *Semin Immunol.* 2019; 46: 101333. DOI: 10.1016/j.smim.2019.101333
 9. Nenasheva NM. Terapiya bronhial'noj astmy, osnovannaya na biomarkerah [Asthma treatment based on biomarkers]. *Prakticheskaya pul'monologiya* [Practical pulmonology]. 2018; 4: 3-11.
 10. Chung KF. Personalised medicine in asthma: time for action: Number 1 in the Series "Personalised medicine in respiratory diseases" Edited by Renaud Louis and Nicolas Roche. *Eur Respir Rev.* 2017; 26 (145): 170064. DOI:10.1183/16000617.0064-2017
 11. Pavord ID, Afzalnia S, Menzies-Gow A, Heaney LG. The current and future role of biomarkers in type 2 cytokine-mediated asthma management. *Clin Exp Allergy.* 2017; 47 (2): 148-160. DOI:10.1111/cea.12881
 12. McGregor MC, Krings JG, Nair P, Castro M. Role of Biologics in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019; 199 (4): 433-445. DOI:10.1164/rccm.201810-1944CI
 13. European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *Global Atlas of Asthma.* 2021. Available from: www.eaaci.org
 14. Peters MC, Nguyen ML, Dunican EM. Biomarkers of Airway Type-2 Inflammation and Integrating Complex Phenotypes to Endotypes in Asthma. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016; 16 (10): 71. DOI:10.1007/s11882-016-0651-4
 15. Diamant Z, Vijverberg S, Alving K, et al. Toward clinically applicable biomarkers for asthma: An EAACI position paper. *Allergy.* 2019; 74 (10): 1835-1851. DOI:10.1111/all.13806
 16. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol.* 2015; 16 (1): 45-56. DOI:10.1038/ni.3049
 17. Nenasheva NM. T2-bronhial'naya astma: harakteristika endotipa i biomarkery [T2-high and T2-low bronchial asthma, endotype characteristics and biomarkers]. *Pul'monologiya* [Pulmonology]. 2019; 29 (2): 216-228. DOI: 10.18093/0869-0189-2019-29-2-216-228
 18. Dyneva ME, Aminova GE, Kurbacheva OM, Il'ina NI. Dupilumab: novye vozmozhno-sti v terapii bronhial'noj astmy i polipoznogo rinosinusita [Dupilumab: new opportunities for the treatment of asthma and chronic rhinosinusitis with nasal polyps]. *Rossijskij allergologicheskij zhurnal* [Russian Journal of Allergy]. 2021; 18 (1): 18-31. DOI:10.36691/RJA1408
 19. Cevhertas L, Ogulur I, Maurer DJ, et al. Advances and recent developments in asthma in 2020. *Allergy.* 2020; 75 (12): 3124-3146. DOI:10.1111/all.14607
 20. Simbircev AS. Citokiny v patogeneze i lechenii zabolevanij cheloveka [Role of cytokines in human disease pathogenesis and therapy]. SPb: Foliant [SPb: Foliant]. 2018; 512 p.
 21. Galitskaya MA, Kurbacheva OM. Sovremennyye predstavleniya o roli vrozhdennogo i priobretennogo immuniteta pri bronhial'noj astme [The modern view of the role of innate and adaptive immunity in bronchial asthma]. *Rossijskij Allergologicheskij Zhurnal* [Russian Journal of Allergy]. 2018; 15 (6): 7-17. DOI: 10.36691/RJA87