

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-5-1-26-31>

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПАХ ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

СОБКО Е.А.^{1,2}, ДЕМКО И.В.^{1,2}, КРАПОШИНА А.Ю.^{1,2*}, КАЗМЕРЧУК О.В.¹, АБРАМОВ Ю.И.¹, КАЦЕР А.Б.¹, ЯНКОВА А.В.¹, СМЕРНОВА О.А.², ТОЛМАЧЕВА Ю.Г.², ЭЙДЕМИЛЛЕР Н.С.², СОЛОВЬЕВА И.А.^{1,2}, ЛЕОНТЬЕВА Н.М.^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск, Россия

²КГБУЗ «Краевая клиническая больница», г. Красноярск, Россия

Резюме

Цель. Оценка иммунологических показателей при бронхиальной астме тяжелого течения в зависимости от фенотипа и эндотипа воспаления.

Материалы и методы. Обследовано 57 человек: 40 пациентов с тяжелой бронхиальной астмой (БА) и 17 практически здоровых добровольцев. В зависимости от выделенных фенотипов пациенты с астмой были распределены на 2 группы: аллергическая бронхиальная астма и астма с фиксированной обструкцией. Клиническое обследование пациента заключалось в опросе (сбор жалоб, анамнеза); физикальное обследование (осмотр, аускультация). Степень бронхиальной обструкции оценивалась по количеству дневных и ночных приступов удушья, количеству ингаляций в сутки β_2 – агонистов. Данные по функции внешнего дыхания оценивались на аппарате общей плетизмографии «ErichEger» (Германия). На проточном цитофлуориметре Navios flow cytometer с использованием конъюгатомноклональных антител (МКАТ) к соответствующим антигенам определяли количество лимфоцитов, экспрессирующих маркеры CD4+, CD3+, CD19+, CD8+, CD3+HLADR+CD45RA+CD4+, CD3+CD16+CD56+. Определение концентрации цитокинов IL-4, IL-5 в периферической крови проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа (eBioscience, USA).

Результаты. У пациентов с БА тяжелого течения отмечалось повышение содержания наивных Т-лимфоцитов и лимфоцитов, экспрессирующих поздние маркеры активации (HLA-

DR), в сравнении с контролем. В обеих группах наблюдалось повышение содержания IL-4 и общего IgE в сыворотке крови, тогда как уровень IL-5 был сопоставим с показателями практически здоровых. У пациентов с бронхиальной астмой тяжелого течения с содержанием эозинофилов в периферической крови более 300 клеток в 1 мкл отмечалось увеличение содержания CD4+ лимфоцитов, повышение соотношения CD4+/CD8+ Т-лимфоцитов и NK (CD16+CD56+) клеток.

Заключение. Изучение иммунного статуса при тяжелой бронхиальной астме с эозинофильным типом воспаления выявило увеличение содержания NK-клеток в плазме периферической крови. Полученные результаты требуют продолжения научного исследования, в частности, изучение роли NK-клеток в воспалительном процессе и их ассоциации с эозинофилами.

Ключевые слова: бронхиальная астма, астма с фиксированной обструкцией, эндотип, эозинофильное воспаление, натуральные киллеры, иммунология.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-90030 «Молекулярные механизмы формирования различных фенотипов бронхиальной астмы».

Для цитирования:

Собко Е. А., Демко И. В., Крапошина А. Ю., Казмерчук О. В., Абрамов Ю. И., Кацер А. Б., Янкова А. В., Смирнова О. А., Толмачева Ю. Г., Эйдемиллер Н. С., Соловьева И. А., Леонтьева Н. М. Особенности иммунного статуса при различных фенотипах тяжелой бронхиальной астмы. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2020; 5(1): <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-1-26-31>

*Корреспонденцию адресовать:

Крапошина Ангелина Юрьевна, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, E-mail: angelina-maria@inbox.ru
© Собко Е.А. и др.

ORIGINAL RESEARCH

FEATURES OF IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH SEVERE BRONCHIAL ASTHMA

ELENA A. SOBKO^{1,2}, IRINA V. DEMKO^{1,2}, ANGELINA YU. KRAPOSHINA^{1,2**}, OLGA V. KAZMERCHUK¹, YURIY I. ABRAMOV¹, ANNA B. KACER¹, ANASTASIA V. YANKOVA¹, OLGA A. SMIRNOVA², YULIA G. TOLMACHOVA², NINA S. EYDEMILLER², IRINA A. SOLOVEVA^{1,2}, NIGORA M. LEONTIEVA^{1,2}

¹Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

²Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract

Aim. To determine the level of IgA and IgG to estradiol, progesterone, and benzo[a]pyrene in women with or without preterm labor and to assess whether the administration of progestagens affect these parameters.

Aim. To assess the immunological parameters in severe bronchial asthma in relation to the phenotype and endotype of inflammation.

Materials and Methods. We examined 40 patients with severe bronchial asthma, further stratified by phenotype (allergic asthma and fixed airflow obstruction asthma) and 17 healthy volunteers. Bronchial obstruction was clinically estimated by the day/night asthma attack count or number of β_2 -agonists inhalations per day. The number of CD4⁺, CD3⁺, CD19⁺, CD8⁺, CD3⁺, HLADR⁺, CD45RA⁺, CD4⁺, CD3⁺, CD16⁺, and CD56⁺ lymphocytes was determined using flow cytometry. Measurement of serum IL-4 and IL-5 was performed by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. Patients with severe bronchial asthma showed an increase in naive T-lymphocytes

and HLA-DR⁺ lymphocytes in comparison with healthy blood donors. In addition, an increase in serum of IL-4 and total IgE was found in patients with asthma. Patients with severe bronchial asthma and > 300 eosinophils/ μ L were characterised by an increase in CD4⁺ lymphocytes, NK (CD16⁺CD56⁺) cells, and higher ratio of CD4⁺ to CD8⁺ T-lymphocytes.

Conclusion. Further research on asthma development should be focused on the role of NK cells in the inflammation and their association with eosinophils.

Keywords: bronchial asthma, fixed airflow obstruction, endotype, eosinophilic inflammation, NK cells, immunology.

Conflict of Interest

Node declared.

Funding

The study was carried out with the financial support of Russian Foundation for Basic Research (RFBR) within the framework of scientific project No. 19-315-90030 «Molecular mechanisms for the formation of various bronchial asthma phenotypes».

◀ English

For citation:

Elena A. Sobko, Irina V. Demko, Angelina Yu. Kraposhina, Olga V. Kazmerchuk, Yury I. Abramov, Anna B. Kacer, Anastasia V. Yankova, Olga A. Smirnova, Yulia G. Tolmachova, Nina S. Eydemiller, Irina A. Soloveva, Nigora M. Leontieva. Features of immune status in patients with severe bronchial asthma. *Fundamental and clinical medicine*. 2020; 5(1): <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-5-1-26-31>

****Corresponding author:**

Dr. Angelina Yu. Kraposhina, 1, Partizana Zheleznyaka, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation, E-mail: angelina-maria@inbox.ru
© Dr. Elena A. Sobko et al.

Введение

С начала 21 века наблюдается увеличение количества пациентов с тяжелым течением бронхиальной астмы (БА). Накоплены данные не только о значимых причинных факторах обострения заболевания, но и о механизмах иммунного ответа, участвующих в формировании хронического персистирующего воспаления дыхательных путей [1,2].

В настоящее время ведение БА требует изучения факторов, которые влияют на прогрессирование заболевания, развитие осложнений и обострений. Согласно национальным рекомендациям, при оптимизации терапии необходимо учитывать биологические и клинические фенотипы заболевания [3]. На основании фенотипических особенностей GINA 2018 (Global Initiative for Asthma) вы-

деляет 5 фенотипов БА: БА с поздним дебютом, аллергическая, неаллергическая, БА у больных с ожирением, БА с фиксированной обструкцией дыхательных путей.

В течение последнего времени появилось еще одно понятие – эндотип. Эндотип – это подтип заболевания, определяющийся отличительным патобиологическим или функциональным механизмом [4, 5]. Выделяют следующие эндотипы: эозинофильный, нейтрофильный, смешанный и агранулоцитарный [6]. Менее изученным типом воспаления является нейтрофильный, который ассоциирован с метаболитами активных нейтрофилов: нейтрофильной эластазой, α -1антитрипсином, IL-17, IL-8 [7, 8]. Активация данных энзимов приводит к ремоделированию дыхательных путей, а соответственно, и к снижению функции легких и неадекватному ответу на терапию ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС) [9]. Наиболее изученным является эозинофильный тип воспаления, который формируется в результате активации аллерген-специфичных клонов Th2-типа [10] и стимуляции врожденных лимфоидных клеток (ILC - 2), являющихся самым ранним источником продукции цитокинов, секретлируемых еще до начала адаптивного иммунного ответа [11]. Каскад данных реакций стимулирует образование IL-5, что приводит к увеличению пула эозинофилов [12] в костном мозге, накоплению эозинофилов в крови, миграции в очаг воспаления.

До настоящего времени исследование показателей иммунного статуса продолжает оставаться актуальным несмотря на значительные успехи в раскрытии патогенетических механизмов развития и течения БА. Частое использование системных глюкокортикостероидов (СГКС) в период обострения заболевания и высокие дозы ИГКС могут оказывать влияние на изменение показателей клеточного, гуморального или фагоцитарного звеньев иммунной системы. Оценка параметров иммунного статуса открывает возможность разработки прогностических персонализированных критериев и оптимизации подходов к таргетной терапии [13, 14].

Цель исследования

Оценка иммунологических показателей при бронхиальной астме тяжелого течения в зависимости от фенотипа и эндотипа воспаления.

Материалы и методы

Нами обследовано 40 пациентов БА тяжелого течения: мужчин – 6, женщин – 34, медиана возраста 56 [49; 63] лет.

Диагноз БА тяжелого течения был установлен на основании объема базисной противовоспалительной терапии, соответствующей 4 ступени согласно рекомендациям GINA 2018, которую получали все пациенты, включенные в исследование. Респонденты демонстрировали правильную технику ингаляции, имели высокую приверженность к приему базисной терапии.

В зависимости от выделенных фенотипов пациенты были распределены на 2 группы (**таблица 1**). В 1-ю группу вошли 24 респондента, страдающие аллергической БА тяжелого течения, среди них женщин – 23 (95,8%), мужчин – 1 (4,2%); медиана возраста составила 53,5 [42; 61,5] лет, медиана длительности заболевания – 7 [3,5; 14] лет. Во 2-ю группу включены 16 пациентов БА с фиксированной обструкцией, среди них женщин – 11 (68,7%); мужчин – 5 (31,3%), медиана возраста – 61 [55,5; 65] год, медиана давности заболевания – 16,5 [5,5; 21,5] лет (**таблица 1**). В обеих группах встречались курящие пациенты. Так, в 1-й группе курили 2 (8,3%) человека, стаж курения составил 18 лет, ИК 240, ИПЛ – 12. Во 2-й группе – 5 (31,3%) пациентов, стаж курения составил – 25 лет [16; 33], ИК – 240 [120; 240], ИПЛ 12 [12; 18]. Группу контроля составили 17 практически здоровых добровольцев, среди них женщин – 14 (82,3%), мужчин – 3 (27,7%); медиана возраста – 48,5 [35; 60,5] лет.

Критерии включения: БА тяжелого течения; подтвержденная данными спирометрии обратимая бронхиальная обструкция; возраст от 18 до 65 лет, приверженность к базисной терапии, правильное использование базисных препаратов, объем базисной терапии, который соответствует 4 – 5 ступени GINA 2018.

Критерии исключения: БА легкой и средней степени тяжести, ХОБЛ, тяжелая почечная и печеночная недостаточность; злокачественные новообразования; беременные и кормящие грудью женщины.

Информированное согласие на участие в исследовании было подписано всеми пациентами.

Стоит отметить, что более ранний дебют БА характерен для аллергической формы, при этом длительность заболевания была выше в группе пациентов БА с фиксированной обструкцией.

Показатель Feature		1-я группа/ Allergic asthma (n = 24)	2-я группа/ Fixed airflow obstruction asthma (n = 16)
Пол/ Gender	Женщины, n/% Females, n/%	23/95,8%	11/68,8%
	Мужчины, n/% Males, n/%	1/4,2%	5/31,3%
Длительность заболевания, годы Duration of the disease, years		8,0 [4,0; 15,0]*	16,5 [5,5; 21,5]
Возраст дебюта заболевания, годы Age of onset, years		33,0[29,0;48,0]*	44,5 [34,5; 59,0]
Коморбидная патология/ Comorbidity			
Аллергический ринит, n/% Allergic rhinitis, n/%		19/73%**	10/62,5%
Непереносимость лекарственных средств, n/% Drug intolerance, n/%		0/0%	1/6,2 %
Гипертоническая болезнь, n/% Arterial hypertension, n/%		17/70,8%**	12/75%
Ишемическая болезнь сердца, n/% Coronary artery disease, n/%		2/8%**	5/31,25%

*p < 0,05, Mann-Whitney U-test

**p < 0,05, chi-squared test

Таблица 1.

Клиническая характеристика пациентов бронхиальной астмой тяжелого течения

Table 1.

Clinical features of the patients with severe asthma

Во 2-й группе 12 пациентов имели аллергическую БА, и 1 пациент имел непереносимость неспецифических противовоспалительных препаратов (НПВП).

Клиническое обследование пациента заключалось в опросе (сбор жалоб, анамнеза), физикальном обследовании (осмотр, аускультация). Степень бронхиальной обструкции оценивалась по количеству дневных и ночных приступов удушья, количеству ингаляций в сутки β₂ – агонистов.

Исследование функции внешнего дыхания проводили на аппарате общей плевтизографии «ErichEger» (Германия) методом спирометрии с бронходилатационным тестом (400 мкг салбутамола). Спирометрия выполнена по стандартам Европейского респираторного общества (European Respiratory Society – ERS) и Американского торакального общества (American Thoracic Society – ATS) [5].

На проточном цитофлуориметре Navios flow cytometer с использованием конъюгатмоноклональных антител (МКАТ) к соответствующим антигенам определяли количество лимфоцитов, экспрессирующих маркеры CD4+, CD3+, CD19+, CD8+, CD3+HLADR+CD45RA+CD4+, CD3+CD16+CD56+ (набор «IMK», "Beckman coulter" (США).

Определение Ig E проводили методом ИФА с использованием наборов фирмы «Вектор» – IgE общий-ИФА-БЕСТ (Россия). Исследование внутриклеточного кислородозависимого метаболизма нейтрофилов определялось с помощью НСТ-теста в модификации А.Н. Маянского и М.Е. Виксмана (1979) [12].

Определение концентрации цитокинов IL-4, IL-5 проводилось согласно стандартной инструкции по применению производителя иммуноферментной тест-системы (Platinum ELISA, eBioscience, USA).

Контроль БА оценивался с помощью анкеты ACQ-5, которая позволяет оценить уровень контроля и риск обострений в будущем. Тест ACQ-5 состоит из 5 вопросов, которые оцениваются по 6-балльной шкале ответов. Общий балл ACQ-5 вычисляется как среднее арифметическое для 5 ответов: 0,5-0,75 – хороший контроль, 0,75-1,5 – промежуточный контроль, 1,5 – неконтролируемая астма.

Статистический анализ. Качественные переменные описаны абсолютными и относительными частотами. Количественные значения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q1 и Q3), где Q1 – 25 процентиль, Q3 – 75 процентиль. При сравнительном анализе групп по количественным признакам использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Значимость различий по качественным признакам между группами проводили с использованием критерия χ² – квадрат. Статистическая обработка была выполнена с помощью программ Microsoft Office Excel и Agricultural Statistics, 2009. Различия считались статистически достоверными при p<0,05.

Результаты

Клинико-функциональная характеристика пациентов БА, включенных в исследование, представлена в **таблице 2**. Большинство па-

циентов обеих групп отмечали ежедневные симптомы БА, внепланово обращались в поликлинику за неотложной медицинской помощью, имели потребность в вызове скорой помощи. Однако пациенты с фиксированной обструкцией значимо чаще нуждались в ежедневном применении короткодействующего β_2 -агониста (КДБА). Клинические

симптомы были объективизированы тестом ACQ-5, результаты которого также подтверждают отсутствие контроля БА ($ACQ-5 > 1,5$ баллов).

При изучении показателей спирометрии было отмечено, что у пациентов 2-й группы показатели $ОФВ_1$ и отношение $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ не достигали должных значений (таблица 2).

Таблица 2.

Клинико-функциональные показатели пациентов бронхиальной астмой тяжелого течения

Table 2.

Clinical and spirometry indicators in the patients with severe asthma

Показатель Feature	1-я группа Allergic asthma (n = 24)	2-я группа Fixed airflow obstruction asthma (n = 16)
	Me [Q ₁ ; Q ₃]	Me [Q ₁ ; Q ₃]
Количество дневных приступов, раз/сутки Number of daily attacks, times/day	5,0 [3,0; 6,0]	5,0 [4,0; 7,5]
Количество ночных приступов, раз/сутки Number of night attacks, times/day	2,0 [1,0; 3,0]	2,0 [2,0; 3,0]
Ингаляции КДБА, раз/сутки Inhalations of short-acting β_2 -agonists, times/day	8,0 [4,0; 16,0]	14,0 [9,0; 20,0]
Количество обострений, раз/год Number of exacerbations, times/year	2,0 [0,0; 2,0]	2,0 [1,0; 5,0]
Количество госпитализаций, раз/год Number of hospitalisations, times/year	1,0 [0,0; 1,0]	1,0 [1,0; 1,0]
Количество обращений в поликлинику, раз/год Number of ambulatory visits, times/year	1,0 [0,0; 4,0]	4,0 [1,0; 5,0]
ACQ-5, балл ACQ-5, point	3,4 [2,8; 4,6]*	4,4 [3,6; 5,1]
$ОФВ_1$, % Forced expiratory volume in 1 second, %	82,0 [76,4; 90,0]*	75,0 [61,35; 80,0]
$ОФВ_1/ФЖЕЛ$, % Forced expiratory volume in 1 second to forced vital capacity, %	74,5 [74,0; 78,0]*	60,0 [56,25; 65,5]

* $p < 0,05$, Mann-Whitney U-test

Результаты исследования маркеров дифференцировки и активационных маркеров у пациентов БА, включенных в исследование, и у здоровых доноров представлены в таблице 3.

Необходимо отметить, что между группами не выявлено изменений в процентном соотношении Т-клеточных популяций (CD4+ и CD8+) в составе Т-лимфоцитарной популяции CD3+. Нами было зарегистрировано снижение CD4+ Т-лимфоцитов в сравнении с контрольной группой у больных БА с фиксированной обструкцией. Показатели соотношения CD4+/CD8+ Т-лимфоцитов в исследуемых группах не отличались и соответствовали средним величинам нормы.

В обеих группах наблюдалось увеличение содержания наивных Т-хелперов (CD45RA+CD4+), активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLADR+) в сравнении с показателями практически здоровых. Как при аллергической БА, так и при БА с фиксированной обструкцией регистрировалось повышение содержания IL-4 и общего IgE в сыворотке крови,

тогда как уровень IL-5 был сопоставим с показателями практически здоровых.

В настоящее время известно, что определение эозинофилов в периферической крови может использоваться для выявления эозинофильного фенотипа воспаления. Пороговым значением содержания эозинофилов считают эозинофилию периферической крови более 300 клеток/мкл. Дополнительными маркерами, свидетельствующими в пользу эозинофильного типа, является значение фракции оксида азота выдыхаемого воздуха более 50 ppb.

Для изучения изменений параметров иммунного статуса в зависимости от количества эозинофилов в периферической крови мы разделили включенных в исследование пациентов БА тяжелого течения на 2 группы. Так, в 1-ю группу вошли 28 респондентов БА тяжелого течения с количеством эозинофилов крови менее 300 клеток/мкл, во 2-ю группу включены 12 пациентов БА тяжелого течения с уровнем эозинофилов крови более 300 клеток/мкл (таблица 4).

Показатель Feature	1-я группа Allergic asthma (n = 24)	2-я группа Fixed airflow obstruction asthma (n = 16)	Контроль Healthy volunteers (n = 17)	Значимость различий Statistical significance
	Me [Q ₁ ; Q ₃]	Me [Q ₁ ; Q ₃]	Me [Q ₁ ; Q ₃]	
	1	2	3	
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	29,7[20,1; 37,5]	22,5[20,4; 29,9]	29,3 [26,3; 31,2]	p ₁₋₂ = 0,286
Эозинофилы, клетки /мкл Eosinophils, cells/ μ L	250[80;330]	200[35;345]	-	p ₁₋₂ = 0,298
Эозинофилы, % Eosinophils, %	2,8 [0,7; 3,9]	2,1[0,2; 4,05]	-	p ₁₋₂ = 0,310
CD3 ⁺ CD19 ⁺ cells, %	14,6[11; 22,7]	18[10,3;24,1]	11,5 [10,8;14,6]	p ₁₋₂ = 0,649
CD3 ⁺ CD19 ⁻ cells, %	70[65,0;75,4]	67,2 [53,5; 70,6]	71,7 [67,1; 73,1]	p ₁₋₂ = 0,152
CD3 ⁺ CD8 ⁺ cells, %	23,3 [20,1; 27,6]*	23,4 [19,7; 29,5]	18,6 [15,1; 22,7]	p ₁₋₂ = 0,929
CD3 ⁺ CD4 ⁺ cells, %	42 [32,8; 51,4]*	38,9 [34,5; 46,85]*	54,4 [46,7; 58,05]	p ₁₋₂ = 0,231
CD16 ⁺ CD56 ⁺ cells, %	9,95 [5,4; 12,1]*	11,8 [7,8; 15,3]	13,5 [11,2; 15]	p ₁₋₂ = 0,287
CD3/16/56 ⁺ cells, %	1,8 [0,7; 2,7]*	1,9 [0,3; 2,8]	0,5 [0,3;1,3]	p ₁₋₂ = 0,933
CD3 ⁺ HLADR ⁺ cells, %	4,4 [2,4; 7,0]*	4,4[3,2; 6,4]*	2,15[1,3;2,8]	p ₁₋₂ = 0,933
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ cells	1,9 [1,2;2,6]*	1,9[1,5;2,4]*	2,88[2,3;3,8]	p ₁₋₂ = 0,960
CD45RA ⁺ CD4 ⁺ cells, %	3,8 [1,4; 6,1]*	2,7[1,1; 6,0]*	0,3[0,15;1,8]	p ₁₋₂ = 0,823
IL-5, пг/мл IL-5, pg/mL	2,84 [1,94;3,53]	2,71 [1,77; 3,25]	3,4 [2,5; 3,9]	p ₁₋₂ = 0,826
IL-4, пг/мл IL-4, pg/mL	16,3 [14,9;21,7]*	18,17 [17,3; 20,45]*	1,9 [0,6;3,3]	p ₁₋₂ = 0,346
Общий IgE, МЕ/мл Total IgE, IU/mL	148 [89,5;457,5]*	316 [110; 495]*	55,7 [48,8; 64,3]	p ₁₋₂ = 0,432

*p < 0,05, Mann-Whitney U-test

Таблица 3.

Лабораторные и иммунологические показатели пациентов с бронхиальной астмой тяжелого течения

Table 3.

Immunological parameters in the patients with severe asthma

Показатель Feature	1-я группа Allergic asthma (n = 24)	2-я группа Fixed airflow obstruction asthma (n = 16)
	Me [Q ₁ ; Q ₃]	Me [Q ₁ ; Q ₃]
Эозинофилы, клетки/мкл Eosinophils, cells/ μ L	80 [30; 220]*	420 [330; 600]
Лимфоциты, % / Lymphocytes, %	28,0 [20,1; 37,0]	29,6 [20,1; 36,1]
CD3 ⁺ CD19 ⁺ , %	18,05 [12,6; 25,1]	12,8 [10,0; 18,4]
CD3 ⁺ CD19 ⁻ , %	68,0 [58,9; 75,4]	68,3 [63,0; 73,9]
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	39,0 [32,8; 45,0]*	50,0[42,9; 52,9]
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	25,4 [21,7; 32,3]*	20,7 [18,3; 23,3]
CD3/16/56 ⁺ , %	2,15 [1,1; 2,7]	0,8 [0,6; 2,2]
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	8,10 [4,7; 11,8]*	12,1 [9,2; 20,6]
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	4,65 [3,6; 6,7]	3,4 [1,9; 7,0]
CD45RA ⁺ CD4 ⁺ , %	2,45 [1,1; 6,0]	4,5 [2,7; 6,0]
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ to CD4 ⁺ /CD8 ⁺ ratio	1,75 [1,2; 2,07]*	2,6 [1,9; 2,9]
IL-5, пг/мл IL-5, pg/ml	2,8 [1,9; 3,2]	2,27 [1,94; 3,5]
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	17,7 [15,8; 22,1]	16,8 [14,9; 19,8]
Общий IgE, МЕ/мл Total IgE, IU/ml	151[79; 425]	182[99; 495]

*p < 0,05, Mann-Whitney U-test

Таблица 4.

Лабораторные и иммунологические показатели пациентов с бронхиальной астмой тяжелого течения

Table 4.

Immunological parameters in the patients with severe asthma

У пациентов 2-й группы с уровнем эозинофилов периферической крови более 300 клеток в 1 мкл) наблюдалось значимое повышение CD4⁺ лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса

(CD4⁺/CD8⁺) в сравнении с показателями пациентов 1-й группы. Мы не выявили значимых различий между группами в содержании В-лимфоцитов, активированных и наивных Т-лимфо-

цитов, уровне IL-4, IL-5, общего IgE в периферической крови. Вместе с тем необходимо отметить увеличение содержания NK-клеток в плазме периферической крови во 2-й группе.

Обсуждение

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что независимо от фенотипа, при тяжелой БА, не отмечается значимых сдвигов Т-лимфоцитарных субпопуляционных показателей, что может свидетельствовать об отсутствии системного иммуносупрессивного эффекта при использовании базисной противовоспалительной терапии. Показатели соотношения CD4+/CD8+ Т-лимфоцитов были сопоставимы в сравниваемых группах. Вместе с тем у пациентов БА тяжелого течения отмечалось повышение содержания наивных Т-лимфоцитов и лимфоцитов, экспрессирующих поздние маркеры активации (HLA-DR), в сравнении с контролем. Как при аллергической БА, так и при БА с фиксированной обструкцией наблюдалось повышение содержания IL-4 и общего IgE в сыворотке крови, тогда как уровень IL-5 был сопоставим с показателями практически здоровых.

Среди пациентов БА тяжелого течения, включенных в исследование, в 30% случаев было зафиксировано повышение уровня эозинофилов в периферической крови более 300 клеток в 1 мкл. В этой же группе отмечалось увеличение содержания CD4+ лимфоцитов, повышение соотношения CD4+/CD8+ Т-лимфоцитов и NK (CD16+CD56+) клеток.

В работах последних лет появляются данные, демонстрирующие двоякое взаимодействие NK-клеток с эозинофилами: в одном случае они стимулируют дегрануляцию эозинофилов с по-

мощью повышения экспрессии фосфорилированной внеклеточной сигнальной регулируемой киназы (ERK), а также значительно и дозозависимо увеличивают их апоптоз [4]. После совместного культивирования и прямого межклеточного контакта с эозинофилами NK-клетки усиливают свою эффекторную функцию. Этот процесс зависит от вовлечения запускающих рецепторов NKp46 и NKp30. В свою очередь эозинофилы приобретают активированный фенотип, экспрессируют молекулы CD69, ICAM-1 и HLA класса II [11]. При более высоких соотношениях NK / эозинофилов наблюдается появление у NK-клеток цитотоксической активности в отношении эозинофилов посредством вовлечения NKp46 и NKp30, чем обеспечивается возможный контроль выживания и активности эозинофилов на поздних фазах воспалительных реакций [15], что может свидетельствовать о механизме обратной связи между исследуемыми клеточными популяциями.

Заключение

Определение фенотипов тяжелой БА, обусловленных различными механизмами формирования воспаления, требует проведения дополнительных методов исследования, пока что малодоступных в реальной клинической практике. Изучение иммунного статуса при тяжелой бронхиальной астме с эозинофильным типом воспаления в проведенном нами исследовании выявило увеличение содержания NK-клеток в плазме периферической крови. Полученные результаты требуют продолжения научного исследования, в частности, изучения роли NK-клеток в воспалительном процессе и их ассоциации с эозинофилами.

Литература / References:

1. Демко И.В., Собко Е.А., Чубарова С.В., Соловьева И.А., Крапошина А.Ю., Медведева Н.Н., Вахтина Л.Ю., Жуков Е.Л., Ищенко О.П., Жегалов П.С. Особенности системного воспаления, функции внешнего дыхания и морфологической структуры слизистой оболочки бронхов при тяжелой бронхиальной астме. *Сибирское медицинское обозрение*. 2014;5(89):47-52 [Demko IV, Sobko EA, Chubarova SV, Soloveva IA, Kraposhina AYU, Medvedeva NN, Vakhtina LYU, Zhukov EL, Ishchenko OP, Zhegalov PS. Features of the systemic inflammation, external respiration functions and morphological structure of the bronchial mucous membrane in severe bronchial asthma. *Siberian Medical Review*. 2014;5(89):47-52 (In Russ.).] <https://doi.org/10.20333/25000136-2014-5-47-52>
2. Leung JM, Sin DD. Asthma-COPD overlap syndrome: pathogenesis, clinical features, and therapeutic targets. *BMJ*. 2017;359(3672):1-12. <https://doi.org/10.1136/bmj.j3772>
3. Just J, Gouvis-Echraghi R, Rouve S, Wanin S, Moreau D, Annesi-Maesano I. Two novel, severe asthma phenotypes identified during childhood using a clustering approach. *Eur Respir J*. 2012;40(1):57-62. <https://doi.org/10.1183/09031936.00123411>
4. Kumbhare S, Pleasants R, Ohar JA, Strange C. Characteristics and Prevalence of Asthma/Chronic Obstructive Pulmonary Disease Overlap in the United States. *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13:803-810. <https://doi.org/10.1513/annalsats.201508-554oc>
5. Pascoe S, Locantore N, Dransfield M, Barnes NC, Pavord ID. Blood eosinophil counts, exacerbations and response to the addition of inhaled fluticasone furoate to vilanterol in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a secondary analysis of data from two parallel randomized controlled trials. *Lancet Respir Med*. 2015;7:635-645. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(15\)00106-x](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(15)00106-x)

6. Авдеев С.Н., Ненашева Н.М., Жуденков К.В., Петраковская В.А., Изюмова Г.В. Распространенность, заболеваемость, фенотипы и другие характеристики тяжелой бронхиальной астмы в Российской Федерации. *Пульмонология*. 2018;28(3):341-358 [Avdeev SN, Nenashева NM, Zhudenkov KV, Petrakovskaya VA, Izyumova GV. Prevalence, morbidity, phenotypes and other characteristics of severe bronchial asthma in Russian Federation. *PULMONOLOGIYA*. 2018;28(3):341-358 (In Russ.).] <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-3-341-358>
7. Ахминеева А.Х., Полунина О.С. Дисфункция эндотелия при хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астме. *Астраханский медицинский журнал*. 2012;7(3): 43-46 [Ahmineeva AH, Polunina OS. The dysfunction of endothelium in chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. *Astrakhan Medical Journal*. 2012;7(3):43-46 (In Russ.).]
8. Den Otter I, Willems LN, van Schadewijk A, van Wijngaarden S, Janssen K, Jeu RC, Sont JK, Sterk PJ, Hiemstra PS. Lung function decline in asthma patients with elevated bronchial CD8, CD4 and CD3 cells. *Eur Respir J*. 2016;48(2):393-402. <https://doi.org/10.1183/13993003.01525-2015>
9. Воронина Л.П., Севостьянова И.В., Заклякова Л.В., Полунина В.А., Белякова И.С. Прогнозирование ремоделирования миокарда при бронхиальной астме. *Астраханский медицинский журнал*. 2014;9(4):12-20 [Voronina LP, Sevost'yanova IV, Zaklyakova LV, Polunina VA, Belyakova IS. The prognosis of myocardial remodeling in bronchial asthma. *Astrakhan Medical Journal*. 2014;9(4):12-20 (In Russ.).]
10. Al-Daghri NM, Alokail MS, Draz HM, Abd-Alrahman SH, Yakout SM, Clerici M. Th1/Th2 cytokine pattern in Arab children with severe asthma. *Clin Exp Allergy*. 2014;7(8):2286-2291.
11. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med*. 2012;18(5):716-725. <https://doi.org/10.1038/nm.2678>
12. Brightling CE, Chaney P, Leigh R, O'Byrne PM, Korn S, She D, May RD, Streicher K, Ranade K, Piper E. Efficacy and safety of tralokinumab in patients with severe uncontrolled asthma: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med*. 2015;3: 691-700. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(15\)00197-6](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(15)00197-6)
13. Korevaar DA, Westerhof GA, Wang J, Cohen JF, Spijker R, Sterk PJ, Bel EH, Bossuyt PM. Diagnostic accuracy of minimally invasive markers for detection of airway eosinophilia in asthma: a systematic review and meta – analysis. *Lancet Respir Med*. 2015;3(4):290-300. [https://doi.org/10.1016/s2213-2600\(15\)00050-8](https://doi.org/10.1016/s2213-2600(15)00050-8)
14. Курбачева О.М., Павлова К.С. Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы: от патогенеза и клинической картины к выбору терапии. *Российский аллергологический журнал*. 2013;1:15-24 [Kurbacheva OM, Pavlova KS. Phenotypes and endotypes of bronchial asthma: from pathogenesis and clinical features to therapy. *Russian Journal of Allergy*. 2013;1:15-24 (In Russ.).]
15. Tho NV, Park HY, Nakano Y. Asthma – COPD overlap syndrome (ACOS): A diagnostic challenge. *Respirology*. 2016;1:410-418. <https://doi.org/10.1111/resp.12653>

Сведения об авторах

Собко Елена Альбертовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1); заведующий отделением аллергологии краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 3а).
Вклад в статью: набор материала, написание статьи.
ORCID: 0000-0002-9377-5213

Демко Ирина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1); заведующий легочно-аллергологическим центром краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 3а).
Вклад в статью: разработка концепции.
ORCID: 0000-0001-8982-5292

Крапошина Ангелина Юрьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1); врач-пульмонолог лечебно-диагностического отделения краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 3а).
Вклад в статью: набор материала, написание статьи.
ORCID: 0000-0001-6896-877X

Казмерчук Ольга Витальевна, лаборант, ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1).

Authors

Prof. Elena A. Sobko, MD, DSc, Professor, Department of Internal Medicine and Immunology, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation); Head of Allergology Unit, Regional Clinical Hospital (3a, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Contribution: collected the data; wrote the manuscript.
ORCID: 0000-0002-9377-5213

Dr. Irina V. Demko, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Internal Medicine and Immunology, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation); Head of the Lung and Allergology Center, Regional Clinical Hospital (3a, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Contribution: conceived and designed the study.
ORCID: 0000-0001-8982-5292

Dr. Angelina Yu. Kraposhina, PhD, Associate Professor, Department of Internal Medicine and Immunology, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation); Pulmonologist, Diagnostic Unit, Regional Clinical Hospital (3a, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Contribution: collected the data; wrote the manuscript.
ORCID: 0000-0001-6896-877X

Dr. Olga V. Kazmerchuk, Medical Laboratory Assistant, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Contribution: collected the data.
ORCID: 0000-0001-7999-4113

Dr. Yuri I. Abramov, Medical Laboratory Assistant, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Contribution: collected the data.
ORCID: 0000-0002-9937-1025

Вклад в статью: набор материала, обработка материала.
ORCID: 0000-0001-7999-4113

Абрамов Юрий Игоревич, лаборант, ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1).
Вклад в статью: набор материала, обработка материала.
ORCID: 0000-0002-9937-1025

Кацер Анна Борисовна, лаборант, ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1).
Вклад в статью: набор материала, обработка материала.
ORCID: 0000-0002-6649-8900

Янкova Анастасия Владимировна, лаборант, ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1).
Вклад в статью: набор материала, обработка материала.

Смирнова Ольга Анатольевна, врач-лаборант клинико-диагностической лаборатории краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 3а).
Вклад в статью: набор материала.
ORCID: 0000-0002-8235-195X

Толмачева Юлия Геннадьевна, врач-лаборант клинико-диагностической лаборатории краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 3а).
Вклад в статью: набор материала.
ORCID: 0000-0003-1334-0955

Эйдемиллер Нина Сергеевна, врач-лаборант клинико-диагностической лаборатории краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 3а).
Вклад в статью: набор материала.
ORCID: 0000-0002-7569-3863

Соловьева Ирина Анатольевна, доктор медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1); врач-пульмонолог лечебно-диагностического отделения краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 3а).
Вклад в статью: обработка материала.
ORCID: 0000-0002-8493-0058

Леонтьева Нигора Миноваровна, аспирант кафедры внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 1); врач функциональной диагностики отделения функциональной диагностики краевого государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Краевая клиническая больница» (660022, Россия, ул. Партизана Железняка, 3а).
Вклад в статью: набор материала.
ORCID: 0000-0001-8915-5153

Статья поступила: 21.01.2020г.

Принята в печать: 29.02.2020г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Dr. Anna B. Katsner, Medical Laboratory Assistant, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).

Contribution: collected the data.
ORCID: 0000-0002-6649-8900

Dr. Anastasia V. Yankova, Medical Laboratory Assistant, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Contribution: collected the data.
ORCID: 0000-0002-6643-2501

Dr. Olga A. Smirnova, Medical Laboratory Scientist, Clinical and Diagnostic Laboratory, Regional Clinical Hospital (3a, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Вклад в статью: collected the data.
ORCID: 0000-0002-8235-195X

Dr. Yulia G. Tolmachova, Medical Laboratory Scientist, Clinical and Diagnostic Laboratory, Regional Clinical Hospital (3a, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Вклад в статью: collected the data.
ORCID: 0000-0003-1334-0955

Dr. Nina S. Eydemiller, Medical Laboratory Scientist, Clinical and Diagnostic Laboratory, Regional Clinical Hospital (3a, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Вклад в статью: collected the data.
ORCID: 0000-0002-7569-3863

Dr. Irina A. Soloveva, MD, DSc, Associate Professor, Department of Internal Medicine and Immunology, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation); Pulmonologist, Diagnostic Unit, Regional Clinical Hospital (3a, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Contribution: collected the data; wrote the manuscript.
Вклад в статью: processed the data.
ORCID: 0000-0002-8493-0058

Dr. Nigora M. Leontieva, PhD Student, Department of Internal Medicine and Immunology, Voino-Yasenetskiy Krasnoyarsk State Medical University (1, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation); Functional Medicine Doctor, Department of Functional Diagnostics, Regional Clinical Hospital (3a, Partizana Zheleznyaka Street, Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation).
Вклад в статью: collected the data.
ORCID: 0000-0001-8915-5153

Received: 21.01.2020

Accepted: 29.02.2020

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.