

Обострение астмы и нейтрофильный сегмент воспаления бронхов у пациентов с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей

Пирогов А.Б.¹, Приходько А.Г.¹, Афанасьева Е.Ю.¹, Шелудько Е.Г.¹, Горчакова Я.Г.¹, Чжоу С.², Ли Ц.², Перельман Ю.М.¹

¹ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД)
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

² Первая аффилированная клиника, Хайнаньский медицинский университет
Китайская Народная Республика, г. Хайкоу, Longhua District, Longhuang Road, 31

РЕЗЮМЕ

Введение. Нейтрофилы могут играть значительную роль в формировании бронхиального воспаления при обострении бронхиальной астмы (БА) у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (ХГДП).

Цель. Оценить роль нейтрофилов в динамике воспалительного паттерна бронхов при обострении БА у пациентов с ХГДП.

Материалы и методы. У 31 больного (средний возраст $37,2 \pm 2,7$) лет персистирующей БА со среднетяжелым обострением и ранее установленной холодовой гиперреактивностью дыхательных путей при проведении стандартной изокапнической гипервентиляции холодным (-20°C , 3 мин) воздухом (ИГХВ) оценивали уровень контроля БА (Asthma Control Test, АСТ, баллы), функцию внешнего дыхания (объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁), максимальная объемная скорость выдоха на уровне 25–75% форсированной жизненной емкости легких (МОС_{25–75%})), исследовали индуцированную мокроту (ИМ) исходно и через 24 нед наблюдения. На момент обследования больным с целью купирования обострения в течение первых 10 дней дополнительно назначался преднизолон перорально (в максимальной дозе 30 мг), затем 24 нед они продолжали лечение комбинацией будесонид/формотерол (640/18 мкг/сут).

Результаты. На момент первичного обследования АСТ составил 17,0 (13,0; 19,5) баллов, ОФВ₁ $89,1 \pm 3,9\%$, число нейтрофилов в мокроте $55,9 \pm 5,6\%$. В конце лечения уровень контроля над астмой составил 22,0 (17,0; 24,5) ($p = 0,037$), ОФВ₁ $96,2 \pm 2,9\%$ ($p = 0,038$), количество нейтрофилов в ИМ снижалось, но оставалось достаточно высоким ($40,0 \pm 5,5\%$; $p = 0,048$); число эозинофилов не изменялось. Построено уравнение линейной регрессии, показавшее зависимость между исходно высоким количеством нейтрофилов в мокроте, другими клеточными элементами мокроты, уровнем контроля над болезнью и степенью выраженности реакции бронхов после проведения острой бронхопровокационной пробы ИГХВ.

Заключение. Обострение у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей ассоциируется с увеличением нейтрофильного пула бронхиального воспалительного инфильтрата и коррелирует со степенью выраженности реакции на холодовую бронхопровокацию и уровнем контроля над заболеванием.

Ключевые слова: бронхиальная астма, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, фаза обострения, нейтрофильный сегмент воспаления, паттерн воспаления бронхов, контроль астмы.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-54-53019).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД (протокол № 120/1 от 25.10.2017).

✉ Перельман Юлий Михайлович, e-mail: jperelman@mail.ru

Для цитирования: Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Афанасьева Е.Ю., Шелудько Е.Г., Горчакова Я.Г., Чжоу С., Ли Ц., Перельман Ю.М. Обострение астмы и нейтрофильный сегмент воспаления бронхов у пациентов с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 71–78. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-71-78>.

Exacerbation of asthma and neutrophil-dominated airway inflammation in patients with cold-induced airway hyperresponsiveness

Pirogov A.B.¹, Prikhodko A.G.¹, Afanaseva E.Yu.¹, Sheludko E.G.¹, Gorchakova Ya.G.¹, Zhou X.², Li Q.², Perelman Yu.M.¹

¹ Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration
22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

² The First Affiliated Hospital of Hainan Medical University
31, Longhuang Road, Longhua District, Haikou, China

ABSTRACT

Background. Neutrophils can play a significant role in the formation of bronchial inflammation in asthma exacerbation in patients with cold-induced airway hyperresponsiveness (CIAHR).

Aim. To evaluate the role of neutrophils in the dynamics of the inflammatory pattern of bronchi in the exacerbation of asthma in patients with CIAHR.

Materials and methods. In 31 patients (average age 37.2 ± 2.7) years) with persistent bronchial asthma (BA) with moderate exacerbation and previously established cold-induced airway hyperresponsiveness during cold air isocapnic hyperventilation ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3 min) (CAIH), the level of asthma control (Asthma Control Test (ACT), score) and external respiration (forced expiratory volume in the first second (FEV_1), forced expiratory flow between 25% and 75% of the vital capacity (FEF_{25-75})) were assessed; induced sputum (IS) was examined initially and after 24 weeks of follow-up. At the time of the examination, the patients were additionally prescribed prednisone orally (at a maximum dose of 30 mg) for the first 10 days in order to stop the exacerbation, and then they continued treatment with a combination of budesonide / formoterol ($640 / 18\text{ }\mu\text{g}$ per day) for 24 weeks.

Results. At the time of the initial examination, the ACT score was 17.0 (13.0; 19.5), FEV_1 was $89.1 \pm 3.9\%$, and the number of neutrophils in the sputum was $55.9 \pm 5.6\%$. At the end of treatment, the ACT score was 22.0 (17.0; 24.5) ($p = 0.037$), FEV_1 was $96.2 \pm 2.9\%$ ($p = 0.038$), the number of neutrophils in IS decreased, but remained high enough ($40.0 \pm 5.5\%$; $p = 0.048$); and the number of eosinophils did not change. A linear regression equation was made reflecting the relationship between the initially high number of neutrophils in the sputum, other cellular elements in the sputum, the level of asthma control, and the degree of severity of the bronchial response after a bronchoprovocation test with CAIH.

Conclusion. Asthma exacerbation in patients with CIAHR is associated with an increase in the neutrophil pool of the bronchial inflammatory infiltrate and correlates with the degree of severity of the airway reaction to cold bronchoprovocation and the level of asthma control.

Key words: bronchial asthma, cold airway hyperresponsiveness, exacerbation, neutrophil-dominated airway inflammation, pattern of bronchial inflammation, asthma control.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The research was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant No. 18-54-53019).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Committee on Biomedical Ethics of the Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration (Protocol No. 120/1 of 25.10.2017).

For citation: Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Afanaseva E.Yu., Sheludko E.G., Gorchakova Ya.G., Zhou X., Li Q., Perelman Yu.M. Exacerbation of asthma and neutrophil-dominated airway inflammation in patients

ВВЕДЕНИЕ

Клинический синдром холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП), связанный с постоянным воздействием такого экологически обусловленного триггера, как низкая температура атмосферного воздуха, диагностируется у большинства (60–80%) больных бронхиальной астмой (БА) любой степени тяжести [1]. Наряду с другими повреждающими факторами, воздействие низких температур, сопряженное с холодным бронхоспазмом, является индуктором респираторного оксидативного стресса, который интерпретируется в качестве типового патологического процесса, инициирующего развитие и прогрессирование различных заболеваний легких [2].

Ввиду того, что клинические проявления астмы модулируются хроническим воспалением [3], приоритетная роль в изучении механизмов инертности контроля и обострений болезни может быть отведена ведущим клеточным эффекторам воспаления – эозинофильным и нейтрофильным лейкоцитам [4], генерирующим активные формы кислорода (АФК) и другие медиаторы оксидативного стресса, представляющие собой сигнальные молекулы, регулирующие экспрессию провоспалительных цитокинов [2]. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов потенциально способен активировать каскад воспалительных реакций, обуславливающих тяжелое клиническое течение БА [5].

Известно, что при резистентной к стероидной терапии астме у больных, получающих высокие дозы системных кортикостероидов, в бронхоальвеолярном лаваже регистрируется высокий уровень нейтрофилов, в то время как у пациентов, не получающих системные кортикостероиды, преобладает эозинофилия [6]. В период тяжелых обострений, фатальных атак астмы в дыхательных путях доминирует нейтрофильное воспаление [6]. Нейтрофилия бронхиального инфильтрата способствует усугублению клинических проявлений астмы, служит ограничению возможности достижения контроля над заболеванием, сопровождается ухудшением проходимости и увеличением частоты реакции дыхательных путей пациентов на холодovou стимул [4, 7].

На основании изучения бронхиальных биоптатов, полученных от больных с тяжелыми обострениями БА и эндотрахеальной интубацией по поводу дыхательной недостаточности, установлено, что в стадии

обострения слизистая оболочка бронхов усиленно инфильтрируется эозинофилами и, в большей степени, нейтрофилами [8]. При этом не исключается факт наличия у таких пациентов нейтрофилии дыхательных путей и до обострения – в связи с предшествующим тяжелым течением астмы на фоне лечения высокими дозами ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС) [9].

Вопрос о роли морфофункционального статуса нейтрофилов в манифестации воспалительного паттерна бронхов при обострении БА у больных с ХГДП не выяснен. Так как реакция бронхов на холодное воздействие четко ассоциируется с низким уровнем контроля астмы и трудностями купирования холодного бронхоспазма [10], возможность активации при обострении инициированного нейтрофилами оксидативного стресса чревата риском потери контроля и утяжелением БА. Разрешение подобной проблемы связано с поиском средств адекватной фармакотерапевтической коррекции нейтрофильного звена воспаления.

Целью настоящей работы явилась оценка динамических изменений нейтрофильного сегмента воспалительного паттерна бронхов при обострении и вне обострения БА у пациентов с ХГДП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены больные ($n = 31$, средний возраст $(37,2 \pm 2,7)$ лет) обоего пола (14 мужчин, 17 женщин) с установленным диагнозом персистирующей БА (длительность заболевания ≥ 2 лет), клиническими симптомами обострения, согласно критериям [3], и ранее выявленной ХГДП при проведении острой бронхопровокационной пробы изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (ИГХВ) в течение 3 мин при температуре -20°C [1].

До включения в исследование больные получали базисную противовоспалительную терапию комбинированным препаратом ИГКС/ДДБА в суточной дозе менее 1 000 мкг в пересчете на бекламетазон в течение не менее 3 мес. Антиастматическая терапия носила неадекватный и нерегулярный характер по различным, главным образом экономическим, причинам. С момента начала исследования (визит 1) на весь период наблюдения (24 нед) было спланировано лечение больных базисным противовоспалительным препаратом будесонид/формотерол (симбикорт турбухалер) в режиме стабильного дозирования, в повышенной дозе

640/18 мкг/сут. Для купирования симптомов обострения применялась терапия преднизолоном перорально (в максимальной дозе 30 мг) в течение 5–10 дней [3], затем 24 нед продолжалось лечение будесонидом/формотеролом в стабильной дозе.

Дизайн исследования включал исходно (визит 1), через 10 дней от начала лечения (визит 2) и по завершении 24 нед терапии (визит 3) оценку тяжести БА, определение функции внешнего дыхания с анализом параметров кривой «поток – объем» форсированного выдоха (объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), ОФВ₁/ФЖЕЛ, пиковая объемная скорость, максимальная объемная скорость (МОС) выдоха на уровне 25–75% ФЖЕЛ (МОС_{25–75}), средняя объемная скорость выдоха на уровне 25–75% ФЖЕЛ (СОС_{25–75}) методом спирометрии на аппарате Easy on-PC (NDD Medizintechnik AG, Швейцария) с последующей регистрацией показателей после ингаляции β₂-агониста (сальбутамол, 400 мкг). На 1-м и 3-м визитах оценивали контроль астмы при помощи вопросника Asthma Control Test (ACT, Quality Metric Inc., 2002); в качестве критериев полного, хорошего и недостаточного контроля болезни служили результаты, составляющие 25, 24–20 и менее 20 баллов соответственно.

На 1-м и 3-м визитах проводили сбор и изучение образцов индуцированной мокроты (ИМ) [11]. Уровень цитоза выявляли путем определения количества клеток, содержащихся в 1 мкл мокроты. С целью определения клеточного состава цитологические мазки мокроты исследовали по стандартной методике при помощи светооптической иммерсионной микроскопии, с подсчетом не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в центральных и периферических частях препарата. Подсчитанное в цитологических мазках количество нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов, макрофагов, лимфоцитов и клеток бронхиального эпителия выражали в процентах, по результатам проводили формирование цитограмм.

Статистический анализ полученного материала проводился с помощью пакета программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) и использованием программы «Автоматизированная система для научных исследований» [12]. Оценка соответствия признака закону нормального распределения проводили при помощи критериев Колмогорова – Смирнова, Пирсона – Мизеса. При нормальном типе распределения использовали парный *t*-критерий Стьюдента, при распределении данных, отличном от нормального, применяли парный критерий Вилкоксона. Описательная статистика количественных признаков представлена с помощью среднего арифметического, стандартной ошибки среднего арифметического

($M \pm m$), а также медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1; Q_3)$. С целью установления формы зависимости и построения математической модели между случайной величиной и значениями нескольких переменных независимых величин применяли пошаговый множественный регрессионный анализ с построением уравнения регрессии. Для всех величин принимались во внимание уровни значимости (p) менее 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В соответствии с критериями [3], клинические симптомы обострения средней степени тяжести на момент первичного обследования присутствовали у всех включенных в исследование больных БА и характеризовались усилением дыхательного дискомфорта, одышки (92%), увеличением числа дневных эпизодов затрудненного дыхания и появлением их в ночное время (64%), удушьем (56%), различным по интенсивности и характеру кашлем (88%), свистящими хрипами (60%), заложенностью в грудной клетке (50%), увеличением потребности в применении короткодействующих бронхолитиков (94%). Опрос больных с последующей оценкой тяжести заболевания по валидизированному вопроснику ACT показал низкий уровень контроля над заболеванием и значимое улучшение бронхиальной проходимости (Δ ОФВ₁) при проведении бронходилатационной пробы (таблица).

Клиническая успешность проведенного лечения, немаловажным условием реализации которой явилась приверженность больных к терапии, составившая на заключительном этапе наблюдения 85%, нашла отражение в динамике ACT (см. таблицу). При оценке значений ACT в целом по группе на момент 3-го визита наблюдалось статистически значимое повышение уровня контроля БА. На завершающем этапе наблюдения (визит 3) 62% больных заявляли о признаках достижения контроля над астмой (ACT > 20 баллов), 22% больных, получавших регулярную терапию ИГКС, оценивали свое состояние без изменений (ACT < 19 баллов), у 16% больных было зарегистрировано снижение ACT по отношению к первичному тестированию (ниже 15 баллов), а также клинические признаки повторного обострения. Потребность в применении короткодействующих бронхолитиков продолжали испытывать 38% больных.

На 2-м визите через 10 дней применения преднизолона перорально (в дозе 30 мг) отмечалось отсутствие какой-либо динамики показателей бронхиальной проходимости (см. таблицу). Статистически значимое улучшение вентиляционной функции легких с уменьшением реакции при бронходилатационной пробе наступало к 3-му визиту, при длительном регулярном применении в стабильной дозе ИГКС/ДДБА.

Таблица

Вентиляционная функция легких и уровень контроля у больных БА в динамике, $n = 31$					
Показатель	Визит 1	Визит 2	Визит 3	p	p_1
ОФВ ₁ , л, $M \pm m$	3,17 ± 0,22	3,10 ± 0,16	3,43 ± 0,23	0,024	0,022
СОС ₂₅₋₇₅ , л/с, $M \pm m$	2,66 ± 0,24	2,61 ± 0,24	3,21 ± 0,26	0,013	0,006
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %, $M \pm m$	72,7 ± 1,7	74,8 ± 1,5	78,0 ± 1,5	0,005	0,008
ОФВ ₁ , % долж., $M \pm m$	89,1 ± 3,9	88,3 ± 2,3	96,2 ± 2,9	0,038	0,016
МОС ₂₅₋₇₅ , % долж., $M \pm m$	64,6 ± 4,3	64,8 ± 3,1	76,0 ± 3,8	0,015	0,006
ΔОФВ ₁ , %, $Me (Q_1; Q_3)$	12,3 (6,0; 20,0)	11,0 (5,0; 15,0)	4,5 (2,0; 13,5)	0,018	>0,05
АСТ, баллы, $Me (Q_1; Q_3)$	17,0 (13,0; 19,5)	–	22,0 (17,0; 24,5)	0,037	–

Примечание. Уровень значимости различий: между 1-м и 3-м визитами – p ; между 2-м и 3-м визитами – p_1 .

Подсчет основных клеточных элементов индуцированной мокроты выполняли исходно, перед назначением терапии кортикостероидами и через 6 мес лечения ИГКС. У всех больных, включенных в клиническое исследование, индукция мокроты осуществлялась по нарастающей путем 7-минутных ингаляций 3, 4 и 5%-м раствором хлорида натрия. Для проведения цитологического исследования отбирался материал, обладавший минимальным уровнем контаминации плоскоклеточным эпителием (менее 20% плоских эпителиоцитов от всех клеток).

Удовлетворительные образцы мокроты, позволившие оценить изменение в клеточном паттерне бронхиального воспаления, были получены лишь у 26 человек. Как показали результаты анализа данных, паттерн воспаления бронхов подвергался трансформации: от преимущественно смешанного при обострении БА, с высоким количеством эозинофилов (более 2%) и нейтрофилов (более 61%) в мокроте, до эозинофильного, с выраженным нейтрофильным компонентом, вне обострения болезни, в конце периода наблюдения (рис.).

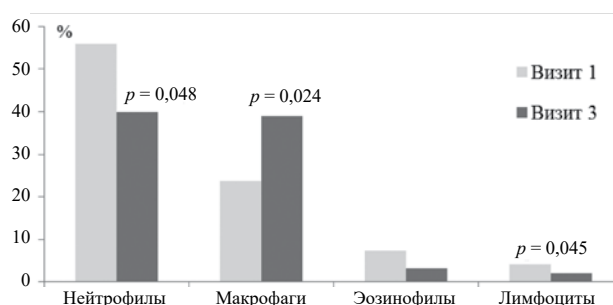


Рисунок. Изменение клеточного состава индуцированной мокроты больных бронхиальной астмой, %

Если процентное содержание эозинофилов в мокроте на 1-м и 3-м визитах статистически не различалось (2,2 (1,5; 7,8) и 1,6 (0,8; 3,6)% соответственно, $p > 0,05$), то число нейтрофилов значимо снижалось с $55,9 \pm 5,6\%$ при обострении до $40,0 \pm 5,5\%$; $p = 0,048$ вне обострения, оставаясь достаточно высоким. Также вне обострения снижался уровень лимфоцитов (с $4,1 \pm 0,79$ до $2,1 \pm 0,41\%$; $p = 0,045$) и повышался уровень макрофагов (с $23,8 \pm 2,9$ до $39,0 \pm 6,1\%$; $p = 0,024$).

Для построения модели, которая наилучшим образом показала бы связь между изучаемыми параметрами, был использован линейный регрессионный анализ. При оценке базовых значений показателей на момент первичного обследования выявлена зависимость между исходно высоким количеством нейтрофилов (Н) в мокроте, другими клеточными элементами мокроты (макрофаги, М, %) и уровнем контроля над болезнью (АСТ, баллы) и степенью выраженности реакции бронхов (Δ ОФВ₁, %) после проведения острой бронхопровокационной пробы ИГХВ:

$$H = 93,0 - 1,4 \times M - 0,3 \times \text{АСТ} - 0,25 \times \Delta\text{ОФВ}_1.$$

Регрессия значима с вероятностью 98,8% объясняет 71,7% дисперсии. Данная зависимость исчезала после регулярного длительного применения ИГКС/ДДБА.

ОБСУЖДЕНИЕ

В выполненных нами ранее работах, касающихся взаимосвязей между клиническими проявлениями БА и организацией воспалительного профиля бронхов у пациентов с ХГДП, неоднократно упоминалось негативное влияние нейтрофилов на достижение клинических критериев контроля над болезнью [4]. Так, у больных персистирующей БА смешанной формы, легкого и среднетяжелого течения снижение клинических и функциональных параметров астмы зависело от роста числа нейтрофилов и повышения уровня нейтрофильной пероксидазы в воспалительном паттерне бронхов [4].

Использование у больных со среднетяжелым обострением БА режима 24-недельного лечения с применением комбинации ИГКС/ДДБА не приводило к регулируемому уменьшению количества нейтрофилов в дыхательных путях, что трактовалось как критический фактор возможной утраты достигнутого контроля над заболеванием [7]. Прогностически неблагоприятный смешанный паттерн воспаления у пациентов с БА тяжелого неконтролируемого течения в сочетании с ХГДП характеризовался не только многочисленным пулом нейтрофилов, но и высокой степенью активности окислительных ферментов, деструкции и цитоллиза гранулоцитов бронхов, что клинически выражалось в утяжелении течения заболевания и более сложной проблеме контроля над астмой [13].

По данным ряда авторов, смешанный паттерн воспаления, определяемый примерно у 10–15% больных БА, сочетается с более тяжелыми симптомами и более частыми, трудно поддающимися терапии ИГКС обострениями болезни по сравнению с Th2 паттерном бронхиального воспаления [14, 15]. Нейтрофилия и смешанный паттерн воспаления ассоциируются с повышенной экспрессией цитокинов не Th2 типа – цитокина интерлейкина (IL) 17 и провоспалительного интерферона гамма [14]. Экспрессию IL-17 связывают с обнаруженными *in vitro* и *in vivo* явлениями нетоза нейтрофилов, часто развивающегося у астматиков по так называемому нелигическому, или жизненному, пути с образованием «энуклеированных цитопластов», индуцирующих дифференцировку наивных CD4+T-хелперных лимфоцитов (CD4+Th0) в субпопуляцию T-хелперов 17 (Th17) – продуцентов IL-17 [14, 15].

«Энуклеированные цитопласты», возникающие вследствие десементации ядра, распада ядерной оболочки на множество пузырьков и извержения деконденсированного хроматина через разрыв плазматической мембраны нейтрофилов с повторным запечатыванием последней, обладают набором довольно существенных функциональных свойств. Если выброшенная двухцепочечная ДНК может взаимодействовать с дендритными клетками воздухоносных путей через рецепторы TLR2, что приводит к образованию CD4+Th2, то активация дендритных клеток цитопластами, напротив, обуславливает дифференцировку Th0 в антигенспецифические Th17 [14, 15].

Гиперпродукция связанных с Th17 цитокинов, включая IL-17A и IL-17F, считается основной движущей силой для рекрутирования и активации нейтрофилов посредством индукции цитокинов и хемокинов CXCL8, IL-6, G-CSF и GM-CSF, IL-8, CXCL1 и CXCL5, экспрессия которых коррелирует с тяжестью астмы, нейтрофилией бронхиального воспаления [16]. Взаимодействующие в Th17 и Th1 воспалительных ответах цитокины и активированные ферменты модифицируют структуру респираторного тракта больных БА, вызывают ремоделирование и нарастание обструкции бронхов, что способствует падению ОФВ1 [17]. Определенный интерес представляет феномен дифференцировки Th2 клеток дыхательных путей в двойные положительные клетки Th2/Th17. Как следует из исследований *in vivo*, преобладание концентрации двойных положительных клеток Th2/Th17 в бронхоальвеолярном лаваже пациентов с астмой ассоциируется с высокой степенью обструкции и гиперреактивности дыхательных путей, нарастанием тяжести и кортикостероидрезистентностью болезни [18].

Сопоставляя данные об аккумуляции нейтрофилов, активации Th17-ассоциированных цитокинов и

о возможности развития не Th2 типа воспаления при утяжелении астмы с выявлением нами у больных с ХГДП смешанного воспалительного фенотипа в фазу обострения, можно высказать предположение, что ухудшение клинических характеристик БА при обострении сопряжено со стимуляцией нейтрофильного звена воспаления. Вне обострения, несмотря на снижение, количество нейтрофилов в ИМ у 71% больных оставалось достаточно высоким (более 41%), в результате чего был вычленен выраженный нейтрофильный компонент воспалительного паттерна.

Поддержание относительной нейтрофилии в бронхах больных БА с ХГДП вне обострения может быть объяснено с позиций причастности к повышению функциональной активности нейтрофилов терапии будесонидом/формотеролом, а именно антиапоптотическим действием будесонида на нейтрофилы. Доказана способность ИГКС подавлять цитотоксичность легочных NK-клеток, приводящая к снижению интенсивности NK-опосредованного апоптоза гранулоцитов, способствующего эффероцитозу макрофагов [13]. Исследователи утверждают, что нейтрофилия у пациентов с астмой может наблюдаться и независимо от гормональной терапии, а незозинофильная астма является тем фенотипом заболевания, которому свойственна нечувствительность к терапии ИГКС [17].

К механизмам, ответственным за уменьшение количества нейтрофилов в дыхательных путях пациентов с ХГДП вне обострения, принадлежит такой альтернативный апоптозу вариант судьбы нейтрофилов, как «классический» нетоз – процесс программируемой кислородозависимой гибели клеток, целью которого является получение в ответ на действие раздражителей высокоактивных «нейтрофильных внеклеточных ловушек» (Neutrophil Extracellular Traps, NETs) – важного инструмента элиминации патогенов и продуктов воспаления [19–21]. Формирование NETs начинается с праймирования нейтрофилов, запуска NADPH-оксидазного ферментного комплекса и дыхательного взрыва, образования АФК, индуцирующих нейтрофильную эластазу и PAD-4, превращающих аргинин и остатки метиларгинина в цитруллин в гистоновых белках ядра, вследствие чего происходит деконденсация хроматина с одновременным нарушением структурной целостности мембран цитоплазматических гранул. При смешивании деконденсированного хроматина (нити ДНК, гистоны) с ферментами гранул лизосом сетеподобные NETs секретируются во внеклеточное пространство [19–21].

Экзоцитоз содержащегося в NETs ключевого фермента оксидативного стресса – лизосомальной миелопероксидазы (МПО) – может осуществляться не только в результате нетоза нейтрофилов. Как из-

вестно, МПО при взаимодействии с H_2O_2 катализирует окисление галогенидов (Cl^- , Br^- , I^-), генерируя выработку гипогалогенидов (активных форм галогенов, АФГ), производных гипогалогенидов ($HOCl$, $HOBr$ и HOI) и их ионизированных форм (гипохлорит, гипобромит и гипоиодит), в результате чего обеспечивается связь между оксидативным и галогенирующим стрессом [22, 23]. Являясь продуктом азурофильных гранул нейтрофилов, МПО секретируется в межклеточную среду при дегрануляции клеток, связанной с респираторным взрывом.

Показано, что дегрануляция нейтрофилов, находящихся в ИМ больных БА с ХГДП, способна к интенсификации до уровня деструкции [4, 7, 13]. Тотальной дегрануляции клеток, которая индуцирует деструкцию и реализует наибольшее раскрытие эффекторных возможностей нейтрофилов при максимально выраженном респираторном взрыве, предшествует ферментативная активация в виде усиленного синтеза и внутригранулярного депонирования МПО, пропорционального потребностям бронхиального воспаления в АФГ, участвующих в пролонгации оксидативного стресса и поддержании ХГДП. Усиленное накопление пероксидазных резервов нейтрофилов, стимулированное ускоренной утилизацией высоко реакционноспособных галогенсодержащих соединений в матриксе бронхов, завершается функциональным истощением клеток, опустошением запаса пероксидазо-позитивных гранул, интенсивной деструкцией и цитолизом с разрушением сначала цитоплазмы, а затем и ядра клеточным лизисом.

Таким образом, некоторое снижение количества нейтрофилов в воспалительном профиле бронхов больных БА с ХГДП вне обострения явилось следствием, предположительно, АФК-стимулированного нетоза, а также деструктивно-цитолитических процессов, манифестация которых соответствовала периоду обострения, сопряженному с активацией не Th2 воспалительного ответа, превалированием провоспалительных цитокинов и эскалацией оксидативного стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании приведенных данных можно сделать выводы, что предпринятый по поводу обострения БА курс базовой противовоспалительной терапии, сопровождавшийся устранением клинико-функциональных проявлений обострения и повышением уровня контроля над заболеванием, способствовал трансформации смешанного воспалительного паттерна бронхов в эозинофильный. При этом нейтрофильный компонент оставался достаточно выраженным вне обострения, что свидетельствовало об ограниченной эффективности предложенного курса

в отношении регуляции нейтрофильного воспаления. Данное обстоятельство свидетельствует о сохраняющейся трудности всестороннего медикаментозного контроля над воспалением при астме, в частности над нейтрофильным пулом популяции гранулоцитов, инфильтрирующих бронхи больных с ХГДП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука; 2011: 204.
2. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. *Пульмонология*. 2012; 22 (1): 5–10. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10.
3. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2018 update). URL: <http://www.ginasthma.com>.
4. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Влияние нейтрофильного компонента бронхиального воспаления на уровень контроля болезни и функцию внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; 61: 16–24. DOI: 10.12737/21434.
5. Куликов Е.С., Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., Деев И.А., Селиванова П.А., Федосенко С.В., Кириллова Н.А. Молекулярные механизмы тяжелой бронхиальной астмы. *Молекулярная медицина*. 2013; 2: 24–32.
6. Огородова Л.М., Селиванова П.А., Геренг Е.А., Богомяков В.С., Волкова Л.И., Плешко Р.И. Патоморфологическая характеристика нестабильной бронхиальной астмы (фенотип brittle). *Терапевтический архив*. 2008; 80 (3): 39–43.
7. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Динамика воспалительно-клеточного профиля бронхов и нейтрофильного компонента воспаления у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей при применении базисной противовоспалительной терапии. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; 60: 16–22. DOI: 10.12737/19935.
8. Qiu Y., Zhu J., Bandi V., Guntupalli K.K., Jeffery P.K. Bronchial mucosal inflammation and upregulation of CXC chemoattractants and receptors in severe exacerbations of asthma. *Thorax*. 2007; 62 (6): 475–482. DOI: 10.1136/thx.2006.066670
9. Turato G., Baraldo S., Zuin R., Saetta M. The laws of attraction: chemokines, neutrophils and eosinophils in severe exacerbations of asthma. *Thorax*. 2007; 62 (6): 465–466. DOI: 1136/thx.2006.070656.
10. Kolosov V.P., Pirogov A.B., Perelman J.M., Naryshkina S.V., Maltseva T.A. Achievement of asthma control in patients with cold airway hyperresponsiveness at different variants of basic therapy. *Eur. Respir. J.* 2013; 42 (57): 2017.
11. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18 (10): 1415–1422. DOI: 10.2174/092986711795328337.
12. Ульянычев Н.В. Системность научных исследований в медицине. Saarbrücken: LAP Lambert; 2014: 140.
13. Пирогов А.Б., Колосов В.П., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Гассан Д.А., Мальцева Т.А.

- Особенности воспалительных паттернов бронхов и клинико-функциональная характеристика тяжелой неконтролируемой астмы у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Пульмонология*. 2016; 26 (6) 701–707. DOI: 10.18093/086901892016266701707.
14. Duvall M.G., Krishnamoorthy N., Levy B.D. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasm and maintained by defective resolution. *Allergology International*. 2019; 68 (2): 143–149. DOI: 10.1016/j.alit.2018.11.006.
 15. Krishnamoorthy N., Douda D.N., Brüggemann T.R., Ricklefs I., Duvall M.G., Abdunour R.E., Martinod K., Tavares L., Wang X., Cernadas M., Israel E., Mauger D.T., Bleecker E.R., Castro M., Erzurum S. C., Gaston B.M., Jarjour N.N., Wenzel S., Dunican E., Fahy J.V., Irimia D., Wagner D.D., Levy B.D. Neutrophil cytoplasm induce TH17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma. *Science Immunology*. 2018. 3 (26): e4747. DOI: 10.1126/sciimmunol.aao4747.
 16. Wisam A.R., Pre'fontaine D., Chouiali F., Martin J. G., Olivenstein R., Lemie're C., Hamid Q. TH17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123 (5): 1185–1187. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.02.024.
 17. Esteban-Gorgojo I., Antolin-Amérigo D., Domínguez-Ortega J., Quirce S. Non-eosinophilic asthma: current perspectives. *Journal of Asthma and Allergy*. 2018; 11: 267–281. DOI: 10.2147/jaa.s153097.
 18. Irvin C., Zafar I., Good J., Rollins D., Christianson C., Gorska M.M., Martin R.J., Alam R. Increased frequency of dual-positive TH2/TH17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134 (5): 1175–1186. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.05.038.
 19. Коротина О.Л., Генералов И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2012; 4: 23–32.
 20. Кравцов А.Л. Формирование внеклеточных ловушек – эффективный механизм защиты организма от патогена. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 112: 69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-69-74.
 21. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5 (8): 577–582. DOI: 10.1038/nrmicro1710.
 22. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры. *Вестник РАМН*. 2010; 1: 27–39.
 23. Senthilmohan R., Kettle A.J. Bromination and chlorination reactions of myeloperoxidase at physiological concentrations of bromide and chloride. *Arch. Biochem. Biophys.* 2006; 445 (2): 235–244. DOI: 10.1016/j.abb.2005.07.005.

Благодарности

Авторы выражают благодарность канд. мед. наук Е.В. Ушаковой за сотрудничество и помощь в обработке цитологического материала, канд. мед. наук Н.А. Пироговой за консультации при подготовке публикации.

Вклад авторов

Пирогов А.Б. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Приходько А.Г. – анализ и обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального материала. Афанасьева Е.Ю., Швецова Я.Г., Шелудько Е.Г. – отбор и ведение больных в клиническом исследовании, сбор и обработка биологического материала, статистическая обработка полученного материала. Чжоу С., Ли Ц. – анализ и интерпретация данных. Перельман Ю.М. – проверка критически важного интеллектуального материала, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Сведения об авторах

Пирогов Алексей Борисович, канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0001-5846-3276.

Приходько Анна Григорьевна, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0003-2847-7380.

Афанасьева Евгения Юрьевна, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0002-6882-6226.

Шелудько Елизавета Григорьевна, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0001-6622-5198.

Горчакова Яна Геннадьевна, аспирант, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0002-8819-2646.

Чжоу Сяндун, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения респираторной медицины, Первая аффилированная клиника, Хайнаньский медицинский университет, г. Хайкоу. ORCID 0000-0002-1957-3277.

Ли Ци, д-р мед. наук, доцент, отделение респираторной медицины, Первая аффилированная клиника, Хайнаньский медицинский университет, г. Хайкоу. ORCID 0000-0003-4780-3831.

Перельман Юлий Михайлович, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, руководитель лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск. ORCID 0000-0002-9411-7474.

(✉) Перельман Юлий Михайлович, e-mail: jperelman@mail.ru

Поступила в редакцию 23.01.2020

Подписана в печать 29.09.2020