

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Козлова Я.И., Фролова Е.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е.,
Аак О.В., Соловьева Г.И., Клишко Н.Н.

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Изучение роли различных иммунологических медиаторов в формировании хронического аллергического воспаления у больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом (АБЛА) необходимо для выявления возможных мишеней, для терапевтического вмешательства и своевременной диагностики заболевания.

Цель — определить особенности регуляции иммунного ответа и выявить диагностические маркеры развития АБЛА у больных бронхиальной астмой, оценить клинико-иммунологическую эффективность антимикотической терапии.

Проведено обследование 13 больных АБЛА, 14 больных бронхиальной астмой с микогенной сенсибилизацией (БАМС), 17 больных бронхиальной астмой (БА) и 12 условно здоровых лиц. Содержание тимического стромального лимфопоэтина (Thymic stromal lymphopoietin; TSLP), тимус-ассоциированного регуляторного хемокина (Thymus and activation-regulated chemokine; TARC), IL-8, количество эозинофилов, уровни общего IgE и специфических IgE к *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом. Проведен мониторинг иммунологических маркеров на фоне антимикотической терапии.

У больных АБЛА установлены достоверно более высокие значения числа эозинофилов, уровней общего IgE и sIgE к *A. fumigatus*, а также TARC и IL-8 в сыворотке крови по сравнению с больными БА. Не установлено различий в содержании TSLP между обследованными группами пациентов. Положительная корреляционная связь уровня sIgE к *A. fumigatus* с содержанием TARC и IL-8, числом эозинофилов, а также уровнем общего IgE подтверждает важное диагностическое значение показателей провоспалительных цитокинов у больных АБЛА. На фоне применения итраконазола выявлена положительная клинико-иммунологическая динамика у больных АБЛА. После 12 недель терапии установлено достоверное повышение показателей АСТ, ОФВ1 и индекса Тиффно, снижение числа эозинофилов, уровней общего IgE и тенденция к уменьшению содержания TARC и IL-8. Это указывает на эффективность антифунгальных препаратов в лечении хронического аллергического воспаления у больных АБЛА.

Использование современных иммунологических биомаркеров, наряду с традиционными показателями, позволит дифференцированно подходить к оценке вероятности развития АБЛА у больных бронхиальной астмой, доказательно выделять ранние стадии заболевания и судить об эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: *Aspergillus spp.*, *Aspergillus fumigatus*, аллергический бронхолегочный аспергиллез, бронхиальная астма, хемокины, цитокины, итраконазол

Адрес для переписки:

Козлова Яна Игоревна
ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный
медицинский университет»
194291, Россия, Санкт-Петербург,
ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28.
Тел.: 8 (812) 303-51-40.
Факс: 8 (812) 510-62-77.
E-mail: kozlova510@mail.ru

Address for correspondence:

Kozlova Yana I.
North-Western State I.I. Mechnikov Medical University
194291, Russian Federation, St. Petersburg,
St. Jago de Cuba str., 1/28.
Phone: 7 (812) 303-51-40.
Fax: 7 (812) 510-62-77.
E-mail: kozlova510@mail.ru

Образец цитирования:

Я.И. Козлова, Е.В. Фролова, Л.В. Филиппова,
А.Е. Учеваткина, О.В. Аак, Г.И. Соловьева, Н.Н. Клишко
«Диагностические маркеры аллергического бронхолегочного
аспергиллеза у больных бронхиальной астмой»
// Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 4. С. 561-570.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-4-561-570

© Козлова Я.И. и соавт., 2018

For citation:

Ya.I. Kozlova, E.V. Frolova, L.V. Filippova, A.E. Uchevatkina,
O.V. Aak, G.I. Solovyeva, N.N. Klimko "Diagnostic markers of
allergic bronchopulmonary aspergilles in patients with bronchial
asthma", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2018, Vol. 20, no. 4, pp. 561-570.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-4-561-570

DOI: 10.15789/1563-0625-2018-4-561-570

DIAGNOSTIC MARKERS OF ALLERGIC BRONCHOPULMONARY ASPERGILLOSIS IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

Kozlova Ya.I., Frolova E.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Aak O.V., Solovyeva G.I., Klimko N.N.

North-Western State I.I. Mechnikov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Studies of probable significance of different immunological mediators for the development of chronic allergic inflammation in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) are necessary in order to specify potential targets for therapeutic intervention and timely diagnosis of the disease. The purpose of present study was to determine the features of immune response regulation, and to identify diagnostic markers associated with development of ABPA in patients with bronchial asthma, and to evaluate clinical and immunological efficacy of specific antimycotic therapy.

The study involved 13 patients with ABPA, 14 patients with bronchial asthma with fungal sensitization (BAFS), 17 patients with bronchial asthma (BA) and 12 apparently healthy individuals. Levels of thymic stromal lymphopoietin (TSLP), thymus and activation-regulated chemokine (TARC), IL-8, as well as levels of total IgE and specific IgE to *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) were measured in blood serum by enzyme immunoassay; blood eosinophil counts were also made. Monitoring of these immunological markers in the course of antimycotic therapy was carried out.

Significantly higher numbers of eosinophils, increased levels of total IgE and sIgE for *A. fumigatus*, as well as TARC and IL-8 in serum were revealed in patients with ABPA when compared to the patients with BA. No significant differences in TSLP content were found between the examined groups of patients. A positive correlation between the levels of sIgE to *A. fumigatus* and contents of TARC and IL-8, numbers of eosinophils, and total IgE levels confirms the important diagnostic value of proinflammatory cytokines in ABPA patients. In the course of itraconazole medication, a positive clinical and immunological dynamics in ABPA patients was revealed. After 12 weeks of therapy, a significant increase in AST, FEV1 and Tiffno respiratory indexes, along with decreased number of eosinophils, total IgE levels, and a trend towards a decrease in TARC and IL-8 levels were documented. This dynamics confirms clinical efficiency of antifungal drugs when treating chronic allergic inflammation in ABPA patients.

Implementation of modern immunological biomarkers, alongside with traditional indicators, will allow to differentially evaluate a probability for ABLA development in patients with bronchial asthma, to present additional evidence for discerning early stages of the disease, and to conclude about the efficiency of the therapy applied

Keywords: *Aspergillus spp.*, *A. fumigatus*, allergic bronchopulmonary aspergillosis, asthma, chemokines, cytokines, itraconazole

Введение

Микроскопические грибы (микросмицеты) – представители отдельного царства живых существ. Благодаря огромному разнообразию и исключительной способности к выживанию в разных климатических условиях грибы распространены повсеместно. Грибы способны сенсibilизировать макроорганизм и индуцировать развитие всех типов аллергических реакций. Отличительной особенностью строения грибковых спор является то, что ингаляционные частицы микросмицетов состоят из живых клеток и способны к росту и секреции аллергенов *in vivo*. *Aspergillus spp.* – один из основных источников аллергенов как в окружающей среде, так и внутри жилых и производственных помещений.

Исследования последних лет установили связь грибковой сенсibilизации с тяжелым течением БА, о чем свидетельствуют ухудшение функции легких и увеличение числа госпитализаций больных в связи с обострением заболевания [12, 18]. Клинические проявления гиперчувствительности к *Aspergillus spp.* у больных с атопией могут варьировать от обострения бронхиальной астмы до развития тяжелой бронхиальной астмы с микогенной сенсibilизацией и АБЛА [1, 3, 10, 22].

Для АБЛА характерны разнообразные клинические и рентгенологические проявления, которые обычно сопровождаются неконтролируемой БА, рецидивирующими легочными инфильтратами, бронхоэктазами и прогрессирующей дыхательной недостаточностью [2, 14]. В основе

патогенеза заболевания лежит хроническое аллергическое воспаление, в регуляции которого важную роль отводят растворимым медиаторам, осуществляющим все взаимодействия между клетками иммунной системы. Своевременное выявление АБЛА необходимо для назначения адекватной противовоспалительной и антимикотической терапии. Лечение наиболее эффективно, если начато до развития бронхоэктазов и необратимого ухудшения функции дыхания. Следовательно, для врачей в клинической практике большой интерес представляет использование новых иммунологических биомаркеров для ранней диагностики АБЛА. Кроме того, количество исследований эффективности применения азолов в лечении АБЛА ограничено, а влияние антимикотической терапии на иммунологические показатели пациентов и функциональную активность лимфоцитов требует дальнейшего изучения [15, 24].

Цель исследования – определить особенности регуляции иммунного ответа и выявить диагностические маркеры развития АБЛА у больных бронхиальной астмой, оценить клинико-иммунологическую эффективность антимикотической терапии.

Материалы и методы

В микологической клинике СЗГМУ им. И.И. Мечникова в Санкт-Петербурге проведено проспективное исследование 44 больных (медиана возраста – 43 года, мужчин – 9, женщин – 35) тяжелой БА. Контрольную группу составили 12 условно здоровых людей, сопоставимых по возрасту и полу, без аллергических заболеваний в анамнезе. Медиана возраста добровольцев составила 33 года (мужчин – 3, женщин – 9).

Обследование больных включало сбор анамнестических данных (первые симптомы заболевания и время их появления, динамика развития, возможный контакт с плесневыми грибами дома или на работе, наличие аллергических реакций, наследственность по атопии, предшествующая терапия и ее эффективность и т.д.), а также оценку результатов общеклинических, лабораторных, инструментальных методов диагностики. Уровень контроля симптомов и степень тяжести БА определяли в соответствии с критериями «Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы» (GINA, 2016).

При оценке контроля над симптомами БА ориентировались на жалобы, клинические проявления, данные спирометрии с проведением теста на обратимость. Также использовали опросник АСТ (Asthma Control Test), который является краткой и доступной анкетой, содержит 5 вопросов с 5-балльной оценкой ответов. Сумма 25 бал-

лов означают полный контроль БА, 20–24 – неполный контроль, 19 баллов и меньше указывает на отсутствие контроля. С помощью АСТ оценивали уровень контроля БА за последние 4 недели.

Микологическое исследование включало микроскопию и культуральное исследование образцов респираторных биосубстратов: мокрота, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ). Материал для культурального исследования засеивали на среду Сабуро, посевы инкубировали при 37 °С в течение 10 дней. Полученные культуры *Aspergillus* идентифицировали по морфологическим признакам.

Больным проводили кожное тестирование с 6 грибковыми аллергенами: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Candida* (Allergopharma, Германия, разрешение этического комитета СЗГМУ им. И.И. Мечникова от 24.06.2014). Методом иммуноферментного анализа определяли уровень общего IgE (ООО «Полигност», Россия) и специфических IgE (sIgE) к грибковым (панель биотинилированных аллергенов «Алкор Био», Россия) в сыворотке крови. Определение концентрации TARC (R&D Systems, США), TSLP (R&D Systems, США), IL-8 (АО «Вектор-Бест», Россия) в сыворотке крови осуществляли с помощью иммуноферментных тест-систем в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя. Концентрации аналитов были рассчитаны по стандартным кривым и выражены в пг/мл.

Для изучения функции внешнего дыхания использовали спирометрию методом выполнения петли «объем-поток» с компьютерной обработкой результатов исследования. Учитывали следующие показатели: объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), индекс Тиффно. По показаниям выполняли компьютерную томографию (КТ) легких в режиме высокого разрешения.

Для выявления микогенной сенсibilизации использовали критерий, предложенный международными экспертами ISHAM: положительный кожный прик-тест (≥ 3 мм) и/или выявление в сыворотке крови уровня специфического IgE к грибковому аллергену, соответствующего классу I и выше ($\geq 0,35$ Ед/мл) [10]. Диагноз аллергического бронхолегочного аспергиллеза (АБЛА) устанавливали на основании критериев Agarwal R. и соавт. [4].

Полученные в процессе исследования данные обрабатывали с помощью программной системы STATISTICA 10. Данные представляли в виде медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го процентилей, $Q_{0,25}$ и $Q_{0,75}$). Для оценки различий между независимыми выборка-

ми применяли непараметрический критерий Манна–Уитни, между зависимыми выборками использовали критерий Вилкоксона. Корреляции были проверены с помощью теста Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В ходе исследования больные БА были разделены на следующие группы. Положительные результаты кожного тестирования и уровни sIgE к грибковым аллергенам выше диагностического значения (0,35 МЕ/мл) позволили выявить 14

больных тяжелой бронхиальной астмой с микогенной сенсibilизацией (БАМС). У 17 больных была определена тяжелая бронхиальная астма без микогенной сенсibilизации (БА). Согласно критериям Agarwal R. и соавт., у 13 больных установлен АБЛА.

У больных АБЛА абсолютное количество эозинофилов было $0,72 (0,47-0,96) \times 10^9/\text{л}$, а уровни общего IgE и sIgE к *A. fumigatus* составили 1830 (867-2950) МЕ/мл и 4,14 (1,15-6,97) МЕ/мл соответственно. Эти показатели были достоверно выше по сравнению с показателями групп сравнения ($p < 0,05$) (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, Ме ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$)

TABLE 1. IMMUNOLOGICAL INDICATORS OF PATIENTS WITH ASTHMA, Me ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$)

Показатели Indicators	Группы обследованных лиц Studied group				Достоверно значимые различия Significant differences, p
	Контроль, группа 1 Control, group 1 n = 12	БА, группа 2 BA, group 2 n = 17	БАМС, группа 3 BAFS, group 3 n = 14	АБЛА, группа 4 ABFA, group 4 n = 13	
Лейкоциты $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, $\times 10^9/\text{L}$	6,2 (5,15-6,6)	6,6 (5,1-7,9)	6,9 (5,6-7,3)	6,6 (6,1-8,1)	$p_{1-3} = 0,057$
Эозинофилы, % Eosinophils, %	2,0 (1,0-3,0)	3,0 (2,0-5,0)	4,5 (4,0-10,0)	10,0 (6,0-14,0)	$p_{1-3} = 0,003$ $p_{1-4} = 0,000$ $p_{2-4} = 0,001$ $p_{3-4} = 0,048$
Эозинофилы, $\times 10^9/\text{л}$ Eosinophils, $\times 10^9/\text{L}$	0,12 (0,05-0,18)	0,19 (0,12-0,35)	0,37 (0,22-0,62)	0,72 (0,47-0,96)	$p_{1-3} = 0,001$ $p_{1-4} = 0,000$ $p_{2-4} = 0,002$ $p_{3-4} = 0,048$
IgE общий, МЕ/мл IgE total, U/mL	31,0 (20,5-61,0)	262,0 (90-856)	729,5 (232-785)	1830,0 (867-2950)	$p_{1-3} = 0,000$ $p_{1-4} = 0,000$ $p_{2-4} = 0,000$ $p_{3-4} = 0,002$
sIgE <i>Aspergillus</i> , МЕ/мл sIgE <i>Aspergillus</i> , U/mL	нд	0,02 (0,02-0,05)	0,03 (0,01-0,04)	4,14 (1,15-6,97)	$p_{2-4} = 0,000$ $p_{3-4} = 0,000$
TARC, пг/мл TARC, pg/mL	202,5 (195,9-256,0)	429,1 (218-571)	510,0 (432-750)	733,5 (540-812)	$p_{1-3} = 0,000$ $p_{1-4} = 0,000$ $p_{2-4} = 0,018$
TSLP, пг/мл TSLP, pg/mL	13,15 (9,05-22,13)	22,8 (14,6-31,8)	16,8 (9,7-27,7)	12,0 (8,8-24,7)	$p_{2-4} = 0,069$
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL	4,79 (4,08-10,04)	14,35 (11,7-21,0)	15,30 (12,3-29,1)	39,75 (28,4-54,0)	$p_{1-3} = 0,002$ $p_{1-4} = 0,000$ $p_{2-4} = 0,001$ $p_{3-4} = 0,049$

Повышение данных показателей подтверждает наличие персистирующего аллергического воспаления за счет активации Th2-типа иммунного ответа при развитии АБЛА. В ходе микологического исследования респираторных биосубстратов (мокроты и/или БАЛ) выявили рост плесневых микромицетов рода *Aspergillus*: у 9 больных (69%) – *A. fumigatus*, у 4 (31%) – *A. niger*. Анализ результатов субъективных и объективных методов оценки контроля бронхиальной астмы выявил, что в группе больных АБЛА низкий балл при заполнении анкеты АСТ и худшие показатели функции внешнего дыхания ФЖЕЛ и ОФВ1 (табл. 2).

У больных БАМС течение астмы было неконтролируемое. По данным анкеты АСТ, в этой группе зарегистрировано самое меньшее количество баллов (11,5 (9,0-20,0)). Значения АСТ достоверно отличались от показателей больных БА ($p = 0,01$).

Клинико-иммунологические данные больных БАМС занимали промежуточное положение между больными БА и АБЛА (табл. 1, 2). Показатель функции внешнего дыхания индекс Тиффно у больных БАМС были статистически значимо ниже, чем в группе больных БА ($p = 0,034$), что позволяет говорить о более тяжелом течении заболевания. Уровень общего IgE больных БАМС составил 729,5 (232,0-785,0) МЕ/мл, количество эозинофилов периферической крови – $0,37 (0,22-0,62) \times 10^9/л$. Данные показатели не достигали значений больных АБЛА, но были в 1,9 и 2,8 раза выше, чем у больных тяжелой БА.

На следующем этапе мы провели исследование иммунологических медиаторов, участвующих в поддержании аллергического воспаления, и определили их связь со степенью выраженно-

сти микогенной сенсibilизации и клиническими проявлениями тяжести течения заболевания.

Концентрация TSLP в сыворотке крови больных АБЛА составила 12,0 (8,80-24,70) пг/мл, что сопоставимо с группами больных БАМС и БА. Анализ содержания TSLP в сыворотке крови не выявил статически значимых различий как в показателях между больными, так и по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Получены данные по существенному повышению концентрации TARC. Наиболее значимые различия содержания этого хемокина установлены у больных АБЛА (733,5 (540,0-812,0) пг/мл) в сравнении с группой БА (429,1 (218,0-571,3) пг/мл) и контролем (202,5 (195,9-256,0) пг/мл). Кроме того, в ходе работы выявлена отрицательная корреляционная связь между уровнями TARC в сыворотке крови и ухудшением показателей функции внешнего дыхания (снижение ФЖЕЛ ($r = -0,47$; $p < 0,05$) и ОФВ1 ($r = -0,41$; $p < 0,05$)), что предполагает патогенетическую роль TARC в формировании Th2-ответа у пациентов АБЛА. При этом у больных БАМС и БА содержание TARC не различалось, но было достоверно выше по отношению к группе контроля ($p = 0,00$; $p = 0,02$).

В нашем исследовании установлено, что степень продукции IL-8 у больных АБЛА (39,75 (28,35-54,0) пг/мл) достоверно выше, чем у пациентов обеих групп и у практически здоровых лиц контрольной группы (табл. 1). Содержание IL-8 у больных БАМС (15,3 (12,30-29,05) пг/мл) занимало пограничное положение между показателями больных БА и АБЛА, но не достигало статистически значимых различий.

Согласно полученным нами данным, важное значение TARC и IL-8 в развитии аллергического воспаления у больных с микогенной сенсibilизи-

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 2. CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Показатели Indicators	Группы обследованных лиц Studied group			Достоверно значимые различия, p Significant differences, p
	БА, группа 2 BA, group 2 n = 17	БАМС, группа 3 BAFS, group 3 n = 14	АБЛА, группа 4 ABPA, group 4 n = 13	
АСТ, баллы ACT, points	20,0 (15,0-23,0)	11,5 (9,0-20,0)	17,0 (12,0-17,0)	$p_{2-3} = 0,010$ $p_{2-4} = 0,012$
ФЖЕЛ, % FVC, %	98,0 (94,0-101,0)	95,0 (85,0-98,0)	84,0 (83,0-90,0)	$p_{2-4} = 0,002$ $p_{3-4} = 0,049$
ОФВ1, % FEV1, %	76,0 (67,0-79,0)	66,0 (58,0-72,0)	58,0 (47,0-75,0)	$p_{2-4} = 0,028$
Индекс Тиффно, % FEV1/FVC, %	76,0 (71,0-81,0)	70,5 (61,0-74,0)	65,0 (58,0-78,0)	$p_{2-3} = 0,034$

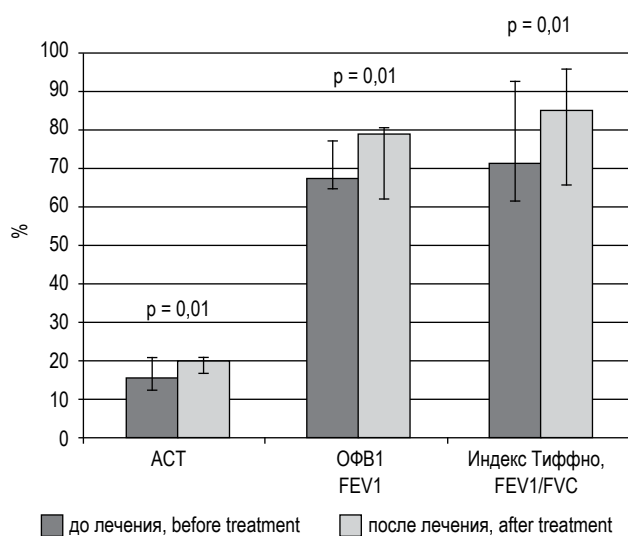


Рисунок 1. Характеристика больных бронхиальной астмой до и после лечения итраконазолом

Figure 1. Characteristics of patients with asthma before and after itraconazole treatment

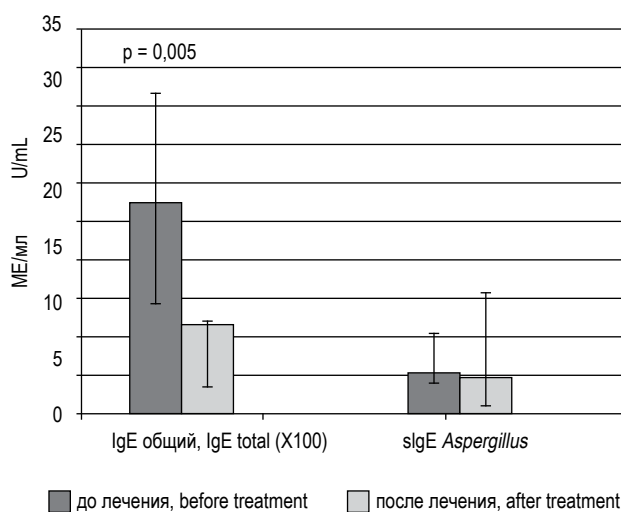


Рисунок 2. Уровень общего и специфического IgE у больных АБЛА до и после лечения итраконазолом

Figure 2. The level of total and specific IgE in patients with ABLA before and after itraconazole treatment

зацией подтверждено положительной корреляционной связью уровня sIgE к *A. fumigatus* с процентным и абсолютным числом эозинофилов ($r = 0,46$, $r = 0,45$, $p < 0,05$), уровнем общего IgE ($r = 0,38$, $p < 0,05$), содержанием TARC ($r = 0,48$, $p < 0,05$) и IL-8 ($r = 0,55$, $p < 0,05$).

В ходе исследования 10 больным АБЛА проведено лечение итраконазолом в дозе 400 мг в сутки. У всех больных после 12 недель терапии отмечен выраженный клинический эффект: уменьше-

ние одышки и кашля, положительная динамика на КТ органов грудной клетки. Субъективные признаки улучшения общего состояния больных нашли отражение в достоверном повышении показателей АСТ-теста и согласуются с улучшением показателей функции внешнего дыхания: достоверное увеличение ОФВ1 и индекса Тиффно (рис. 1).

Все больные переносили препарат хорошо, нежелательных явлений не было. При повторном обследовании после антимикотической терапии у всех больных в нашей работе отмечено статистически значимое снижение относительного (10,0 (8,0-15,0) vs 3,0 (3,0-6,0) %, $p = 0,0125$) и абсолютного числа эозинофилов (0,69 (0,48-0,96) vs 0,20 (0,18-0,34) $\times 10^9/л$, $p = 0,0125$) и уровня общего IgE ($p = 0,005$) (рис. 2).

На фоне проведения терапии отмечена тенденция к снижению концентрации TARC ($p = 0,059$) и IL-8 ($p = 0,059$) в сыворотке крови (рис. 3).

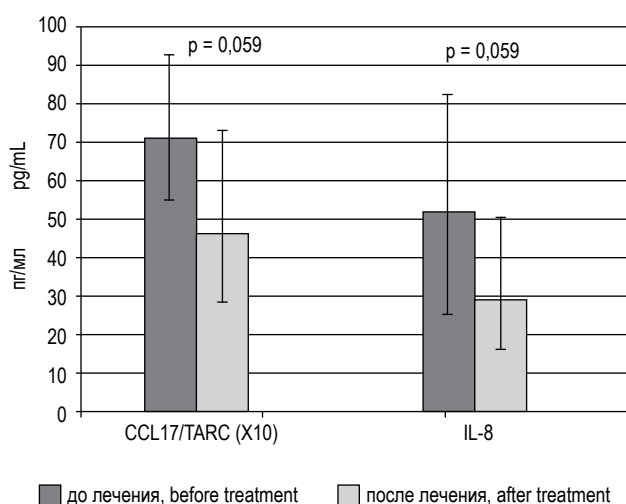


Рисунок 3. Показатели TARC и IL-8 в сыворотке крови у больных АБЛА до и после лечения итраконазолом

Figure 3. TARC and IL-8 serum levels in ABLA patients before and after itraconazole treatment

Обсуждение

Важным предрасполагающим фактором патогенеза БАМС и АБЛА является нарушение клиренса конидий грибов в дыхательных путях больных БА или муковисцидозом. Грибковые споры достигают альвеол и при неэффективном действии альвеолярных макрофагов прорастают в гифы. Эпителиальные клетки дыхательных путей и миелоидные клетки распознают клетки грибов посредством Toll-подобных рецепторов (TLRs) и Dectin-1. В результате этого взаимо-

действия секретируются хемокины и цитокины, участвующие в инициации и поддержании аллергического воспаления [6, 17]. Известно, что гифы грибов рода *Aspergillus* секретируют протеазы и токсины, которые нарушают плотные соединительные контакты между эпителиальными клетками дыхательных путей и получают доступ к легочным дендритным клеткам (DCs). Грибковые протеазы являются мощными аллергенами. Они связываются с рецепторами, активируемые протеиназами (PARs), присутствующими на эпителиальных клетках дыхательных путей, иницируя аллергические реакции в легочной ткани [21]. Следствием взаимодействия рецепторов эпителиальных клеток с аллергенами является синтез TSLP, IL-33 и IL-25, участвующих в подготовке благоприятного фона для аллергического (Th2-зависимого) ответа. Важную роль в инициации аллергических реакций отводят TSLP. TSLP активирует незрелые DCs к продукции Th2-аттрактирующего хемокина TARC и IL-8. TSLP стимулирует тучные клетки к секреции IL-5, IL-13 и IL-6. Дендритные клетки под действием TSLP мигрируют в дренирующие лимфатические узлы и экспрессируют рецептор OX40L, что определяет дифференцировку наивных CD4⁺Т-клеток в воспалительные Th2 [23]. В дальнейшем Th2-опосредованное аллергическое воспаление поддерживается за счет продукции IL-4, IL-5, IL-13 и TNF α . Происходит усиление секреции В-лимфоцитами специфических IgE к *Aspergillus fumigatus* и увеличение миграции эозинофилов из кровотока в легочную ткань [8]. Известно, что протеазы, секретируемые *A. fumigatus*, активируют PARs и вызывают высвобождение IL-8 из эпителиальных клеток дыхательных путей. IL-8 способствует притоку и активации нейтрофилов, вызывает продукцию матриксной металлопротеиназы-9 (Matrix metalloproteinase 9; MMP-9) из различных клеток, что приводит к последующему повреждению тканей легких [6]. Кроме того, высвобождение основного белка эозинофилов может индуцировать дегрануляцию нейтрофилов и усиливать продукцию IL-8. У таких пациентов в патогенезе аллергического воспаления участвуют Th17, поэтому больные плохо отвечают на лечение биологической терапией (моноклональные антитела анти-IL-4/IL-13) и терапию кортикостероидами [5]. Таким образом, как эозинофилы, так и нейтрофилы могут играть определенную роль в развитии повреждения легких и приводить к деградации внеклеточного матрикса легочной ткани у больных АБЛА.

Признано, что во время обострения АБЛА уровень общего IgE может достигать чрезвычайно высоких значений, отражая продолжитель-

ную аллергенную стимуляцию гуморального иммунного ответа [22]. В нашем исследовании выраженную активность Th2 у больных АБЛА подтвердили достоверным повышением числа циркулирующих эозинофилов, уровней общего IgE и sIgE к *A. fumigatus* по сравнению с показателями больных групп сравнения.

TSLP входит в семейство IL-7 цитокинов и является одним из наиболее важных медиаторов межклеточного взаимодействия при развитии аллергического воспаления [23]. В нашем исследовании анализ содержания TSLP в сыворотке крови не выявил статически значимых различий как в показателях между больными, так и по сравнению с контрольной группой. Полученные данные согласуются с результатами других исследований, в которых не установлено статически значимых различий содержания TSLP среди больных БА, БАМС и лиц без аллергических заболеваний [7, 18]. Напротив, Chauhan A. и соавт. показали, что высокие уровни TSLP в сыворотке крови отрицательно коррелировали с показателями АСТ и количеством Treg у детей с БА [9]. Авторы предложили использовать TSLP в качестве биомаркера для оценки тяжести воспалительного процесса дыхательных путей в педиатрической когорте больных БА. Противоречия полученных результатов могут быть связаны с тем, что основным источником TSLP при аллергическом воспалении являются эпителиальные клетки дыхательных путей. Ying S. и соавт. установили связь между выраженностью экспрессии TSLP в эпителиальных клетках дыхательных путей, степенью обструкции и результатами АСТ, что указывало на важную роль TSLP в течении БА [25]. Следовательно, не всегда можно уловить изменение концентрации данного иммунологического медиатора в сыворотке крови. Для уточнения роли TSLP в формировании гиперчувствительности к грибам рода *Aspergillus* необходимо в дальнейшем использовать такие биологические субстраты, как индуцированная мокрота и БАЛ.

TARC является уникальным хемокином, который рекрутирует Th2-клетки посредством связывания с СС-хемокиновым рецептором 4 (CCR4) в очаг воспаления [5]. При моделировании АБЛА экспериментальные животные, лишённые Т-лимфоцитов CCR4⁺, показали ослабление гиперчувствительности дыхательных путей и быстрое удаление конидий *A. fumigatus* по сравнению с контрольными мышами, что указывает на важную роль TARC в иммунном ответе к *A. fumigatus* [17]. Из данных таблицы 1 видно, что концентрация TARC более значимо возросла у больных АБЛА по сравнению с пациентами с БА. Содержание TARC достоверно выше у боль-

ных БА и БАМС по отношению к контрольным показателям, но не различалось между собой. Повышенные уровни TARC обнаружены другими исследователями у больных муковисцидозом и АБЛА по сравнению с показателями в группах больных муковисцидозом с микогенной сенсibilизацией или колонизацией *A. fumigatus*. Длительное наблюдение за пациентами позволило авторам высказать предположение, что увеличение концентрации TARC в сыворотке крови может предшествовать развитию АБЛА среди больных муковисцидозом [13, 16].

Наши данные о повышении продукции IL-8 согласуются с результатами авторов, которые обнаружили у больных АБЛА в другом биосубстрате (мокроте) высокое содержание эозинофилов, нейтрофилов, повышенные уровни IL-8 и MMP-9 [11]. В дальнейшем было высказано предположение, что IL-8 способствует притоку и активации нейтрофилов, вызывает высвобождение MMP-9 из различных клеток, что приводит к последующему повреждению тканей легких [19]. Таким образом, повышенное содержание и функциональная активность эозинофилов и нейтрофилов приводит к деградации внеклеточного матрикса легочной ткани у больных АБЛА. Полученные в настоящем исследовании данные указывают на значимость TARC и IL-8 в развитии аллергического воспаления у больных с микогенной сенсibilизацией.

Современные стратегии лечения АБЛА заключаются в совместном использовании кортикостероидов, системных противогрибковых средств, а в некоторых случаях моноклональных антител против IgE — омализумаба. Необходимость использования антимикотиков связана с тем, что кортикостероиды ингибируют Th17, которые необходимы для эффективного противогрибкового иммунного ответа. Кроме того, *A. fumigatus* обладают способностью подавлять секрецию IL-17 за счет ингибирования метаболизма триптофана, тем самым предотвращая опосредованный Th17-воспалительный ответ против микромицетов [17, 20].

Существует ограниченное количество исследований о влиянии антимикотической терапии на иммунологические показатели больных с микогенной сенсibilизацией. Wark P.A. и соавт. продемонстрировали, что лечение итраконазолом больных АБЛА приводило к снижению содержания катионного эозинофильного белка в мокроте, общего уровня IgE в сыворотке по сравнению с группой плацебо [24]. При исследовании *in vitro* установлено, что итраконазол не влиял на способность наивных Т-клеток здоровых субъектов дифференцироваться в Th1 или Th2. Это указывало на то, что итраконазол не действовал как иммуномодулятор наивных Т-клеток. Вероятно, обнаруженные эффекты итраконазола в улучшении течения Th2-опосредованных заболеваний были обусловлены изменением активности эффекторных Т-клеток [15].

В настоящем исследовании на фоне применения итраконазола у больных АБЛА выявлена положительная клинико-иммунологическая динамика. После 12 недель терапии установлено достоверное повышение показателей АСТ, ОФВ1 и индекса Тиффно, снижение числа эозинофилов, уровней общего IgE и тенденция к уменьшению содержания TARC и IL-8, что указывает на эффективность антифунгальных препаратов в лечении хронического аллергического воспаления у больных АБЛА.

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

Список литературы / References

1. Климко Н.Н., Козлова Я.И., Хостелиди С.Н., Шадринова О.В., Борзова Ю.В., Васильева Н.В. Распространенность тяжелых и хронических микотических заболеваний в Российской Федерации по модели LIFE program // Проблемы медицинской микологии, 2014. № 1. С. 3-8. [Klimko N.N., Kozlova Ya.I., Khostelidi S.N., Shadrivova O.V., Borzova Yu.V., Vasilyeva N.V. The prevalence of serious and chronic fungal diseases in Russian Federation on LIFE program model. *Problemy meditsinskoy mikologii = Problems in Medical Mycology*, 2014, no. 1, pp. 3-8. (In Russ.)]
2. Козлова Я.И., Соболев А.В., Фролова Е.В., Аак О.В., Бурьгина Е.В., Климко Н.Н. Аллергический бронхолегочный аспергиллез у больных бронхиальной астмой // Российский аллергологический журнал, 2015. № 2. С. 37-46. [Kozlova Ya.I., Sobolev A.V., Frolova E.V., Aak O.V., Burygina E.V., Klimko N.N. Allergic

bronchopulmonar aspergillosis in asthmatic patients. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Allergy Journal*, 2015, no. 2, pp. 37-46. (In Russ.).

3. Agarwal R. Severe asthma with fungal sensitization. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2011, Vol. 11, no. 5, pp. 403-413.

4. Agarwal R.A., Chakrabarti A., Shah D., Gupta D., Meis J.F., Guleria R., Moss R., Denning D.W. For the ABPA complicating asthma ISHAM working group 2013. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clinical and Experimental Allergy*, 2013, Vol. 43, no. 8, pp. 850-873.

5. Becerra-Díaz M., Wills-Karp M., Heller N.M. New perspectives on the regulation of type II inflammation in asthma. *F1000Res*, 2017, Vol. 6, p. 1014.

6. Carsin A., Romain T., Ranque S., Reynaud-Gaubert M., Dubus J.-C., Mège J.-L., Vitte J. Aspergillus fumigatus in cystic fibrosis: An update on immune interactions and molecular diagnostics in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Allergy*, 2017, Vol. 72, no. 11, pp. 1632-1642.

7. Chai R., Liu B., Qi F. IL-31, IL-33, and TSLP expression and relation to severity of asthma and rhinitis in Chinese allergic patients. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 2017, Vol. 10, no. 2, pp. 1774-1782.

8. Chaudhary N., Marr K.A. Impact of Aspergillus fumigatus in allergic airway diseases. *Clin. Transl. Allergy*, 2011, Vol. 1, no. 1, p. 4.

9. Chauhan A., Singh M., Agarwal A., Paul N. Correlation of TSLP, IL-33, and CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺T regulatory in pediatric asthma. *J. Asthma*, 2015, Vol. 52, no. 9, pp. 868-872.

10. Denning D.W., Pashley C., Hartl D., Wardlaw A., Godet C., Del Giacco S., Delhaes L., Sergejeva S. Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. *Clin. Transl. Allergy*, 2014, Vol. 15, no. 4, p. 14.

11. Gibson P.G., Wark P.A., Simpson J.L., Meldrum C., Meldrum S., Saltos N., Boyle M. Induced sputum IL-8 gene expression, neutrophil influx and MMP-9 in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Eur. Respir. J.*, 2003, Vol. 21, pp. 582-588.

12. Goh K.J., Yii A.C.A., Lapperre T.S., Chan A.K., Chew F.T., Chotirmall S.H., Koh M.S. Sensitization to Aspergillus species is associated with frequent exacerbations in severe asthma. *J. Asthma Allergy*, 2017, Vol. 21, no. 10, pp. 131-140.

13. Hartl D., Latzin P., Zissel G., Krane M., Krauss-Etschmann S., Griese M. Chemokines indicate allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006, Vol. 173, no. 12, pp. 1370-1376.

14. Hogan C., Denning D.W. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and related allergic syndromes. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2011, Vol. 32, no. 6, pp. 682-692.

15. Kennedy J.L., Steinke J.W., Liu L., Negri J., Borish L., Payne S.C. Failure of itraconazole to prevent T-helper type 2 cell immune deviation: Implications for chronic rhinosinusitis. *Am. J. Rhinol. Allergy*, 2016, Vol. 30, no. 6, pp. 379-384.

16. Latzin P., Hartl D., Regamey N., Frey U., Schoeni M.H., Casaulta C. Comparison of serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.*, 2008, Vol. 31, pp. 36-42.

17. Margalit A., Kavanagh K. The innate immune response to *Aspergillus fumigatus* at the alveolar surface. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2015, Vol. 39, no. 5, pp. 670-687.

18. Masaki K., Fukunaga K., Matsusaka M., Kabata H., Tanosaki T., Mochimaru T., Kamatani T., Ohtsuka K., Baba R., Ueda S., Suzuki Y., Sakamaki F., Oyamada Y., Inoue T., Oguma T., Sayama K., Koh H., Nakamura M., Umeda A., Kamei K., Izuhara K., Asano K., Betsuyaku T. Characteristics of severe asthma with fungal sensitization. *Ann Allergy Asthma Immunol.*, 2017, Vol. 119, no. 3, pp. 253-257.

19. McAllister F., Henry A., Kreindler J.L., Dubin P.J., Ulrich L., Steele C., Finder J.D., Pilewski J.M., Carreno B.M., Goldman S.J., Pirhonen J., Kolls J.K. Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene-alpha and granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 175, no. 1, pp. 404-412.

20. Murdock B.J., Shreiner A.B., McDonald R.A., Osterholzer J.J., White E.S., Toews G.B., Huffnagle G.B. Coevolution of Th1, Th 2, and Th 17 responses during repeated pulmonary exposure to *Aspergillus fumigatus* conidia. *Infect. Immun.*, 2011, Vol. 79, no. 1, pp. 125-135.

21. Porter P., Susarla S.C., Polikepahad S., Qian Y., Hampton J., Kiss A., Vaidya S., Sur S., Ongeri V., Yang T., Delclos G.L., Abramson S., Kheradmand F., Corry D.B. Link between allergic asthma and airway mucosal infection suggested by proteinase-secreting household fungi. *Mucosal Immunol.*, 2009, Vol. 2, no. 6, pp. 504-517.

22. Shah A., Paniabi C. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: a perplexing clinical entity. *Allergy Asthma Immunology Res.*, 2016, Vol. 8, no. 4, pp. 282-297.

23. Wang Y.H., Liu Y.J. Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand, and interleukin-25 in allergic responses. *Clin. Exp. Allergy*, 2009, Vol. 39, no. 6, pp. 798-806.

24. Wark P.A., Hensley M.J., Saltos N., Boyle M.J., Toneguzzi R.C., Epid G.D., Simpson J.L., McElduff P., Gibson P.G. Anti-inflammatory effect of itraconazole in stable allergic bronchopulmonary aspergillosis: A randomized controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003, Vol. 111, no. 5, pp. 952-257.

25. Ying S., O'Connor B., Ratoff J., Meng Q., Fang C., Cousins D., Zhang G., Gu S., Gao Z., Shamji B., Edwards M.J., Lee T.H., Corrigan C.J. Expression and cellular provenance of thymic stromal lymphopoietin and chemokines in patients with severe asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 181, no. 4, pp. 2790-2798.

Авторы:

Козлова Я.И. — к.м.н., доцент кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Фролова Е.В. — к.м.н., заведующая НИЛ иммунологии и аллергологии, Научно-исследовательский институт медицинской микологии имени П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Филиппова Л.В. — к.м.н., старший научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии, Научно-исследовательский институт медицинской микологии имени П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Учеваткина А.Е. — к.м.н., старший научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии, Научно-исследовательский институт медицинской микологии имени П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Аак О.В. — к.х.н., ведущий научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии, Научно-исследовательский институт медицинской микологии имени П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Соловьева Г.И. — к.х.н., ведущий научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии, Научно-исследовательский институт медицинской микологии имени П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Климко Н.Н. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Kozlova Ya.I., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Clinical Mycology, Allergy and Immunology, North-Western State I.I. Mechnikov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Frolova E.V., PhD (Medicine), Head, Research Laboratory of Immunology and Allergology, Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State I.I. Mechnikov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Filippova L.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Research Laboratory of Immunology and Allergology, Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State I.I. Mechnikov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Uchevatkina A.E., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Research Laboratory of Immunology and Allergology, Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State I.I. Mechnikov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Aak O.V., PhD (Chemistry), Leading Research Associate, Research Laboratory of Immunology and Allergology, Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State I.I. Mechnikov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Solovyeva G.I., PhD (Chemistry), Leading Research Associate, Research Laboratory of Immunology and Allergology, Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State I.I. Mechnikov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Klimko N.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Clinical Mycology, Allergy and Immunology, North-Western State I.I. Mechnikov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 09.11.2017

Отправлена на доработку 27.11.2017

Принята к печати 05.12.2017

Received 09.11.2017

Revision received 27.11.2017

Accepted 05.12.2017