

Особенности клеточного состава индуцированной мокроты и цитокинового профиля при синтропии бронхиальной астмы и ожирения у лиц молодого возраста

И.А. СОЛОВЬЕВА^{1,2}, Е.А. СОБКО^{1,2}, И.В. ДЕМКО^{1,2}, А.Ю. КРАПОШИНА¹, М.М. ЛОКТИОНОВА¹, Н.В. ГОРДЕЕВА^{1,2}

¹ФГБОУ ВО ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава РФ, Красноярск, Россия;

²Красноярское ГБУЗ «Красноярская краевая больница», Красноярск, Россия

Резюме

Цель. Оценить изменения клеточного состава индуцированной мокроты у больных бронхиальной астмой (БА) молодого возраста во взаимосвязи с индексом массы тела (ИМТ) и уровнем цитокинов в плазме крови.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 164 больных БА, которых разделили на 2 группы с учетом ИМТ: в 1-ю группу включены больные БА с ИМТ от 18 до 25 кг/м², во 2-ю группу вошли больные БА с ИМТ от 30 до 40 кг/м². Группу контроля составили 40 практически здоровых добровольцев. Оценивали наличие избыточного веса и определяли степень ожирения в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения. Изучали степень контроля БА, клеточный состав индуцированной мокроты, уровни интерлейкинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, фактора некроза опухоли- α , интерферона- γ в плазме периферической крови.

Результаты. Представлены результаты исследования клеточного профиля индуцированной мокроты и цитокинового профиля у больных БА в зависимости от ИМТ и тяжести заболевания. Полученные результаты свидетельствуют о преобладании эозинофильного типа воспаления в группе больных с ИМТ менее 25 кг/м², тогда как у пациентов с ожирением определялось преимущественно малоградулоситарное воспаление. Наиболее высокое содержание ИЛ-17 регистрировали у больных БА с ожирением как в сравнении с показателями больных с нормальным ИМТ, так и с практически здоровыми, что, возможно, является причиной низкого эффекта стероидной терапии у данных больных.

Заключение. Оценка эндотипа перед началом базисной противовоспалительной терапии у больных с впервые диагностированной БА сможет помочь в подборе наиболее оптимального лечения каждому конкретному больному.

Ключевые слова: бронхиальная астма, индуцированная мокрота, цитокины, ожирение.

Features of cellular structure of the induced sputum and profile of cytokines at sintropiya of bronchial asthma and obesity at young patients

I.A. SOLOVEVA^{1,2}, E.A. SOBKO^{1,2}, I.V. DEMKO^{1,2}, A.Yu. KRAPOSHINA¹, M.M. LOKTIONOVA¹, N.V. GORDEEVA^{1,2}

¹Krasnoyarsk state medical university named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia;

²Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk, Russia

Summary

Aim. To estimate changes of cellular structure of the induced sputum at young patients with bronchial asthma at interrelations with BMI and level of cytokines in blood plasma.

Materials and methods. 164 patients with bronchial asthma were divided into 2 groups taking into BMI: the 1st group included patients with bronchial asthma and BMI from 18 to 25 kg/m², patients with bronchial asthma and BMI from 30 to 40 kg/m² entered into the 2nd group. The group of control was made by 40 almost healthy volunteers. Estimated existence of excess weight and defined obesity degree according to recommendations of World Health Organization. Studied the level of control of bronchial asthma, cellular structure of the induced sputum, the IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, TNF- α , INF- γ levels in plasma of peripheral blood.

Results. There are presented the results of the research of cellular profile of the induced sputum and profile of cytokines at patients with bronchial asthma depending on BMI and severity of the disease. The received results testify to prevalence of eosinophilic type of an inflammation in the group of patients with BMI less than 25 kg/m² whereas at patients mainly paucigranulation inflammation decided on obesity. The highest content of the IL-17 was registered at patients with bronchial asthma and obesity as in comparison with indicators of patients with normal BMI, and with almost healthy that, perhaps, is the reason of low effect of steroid therapy at these patients.

Conclusion. Endotype assessment before basic antiinflammatory therapy at patients with the first time diagnosed bronchial asthma, will be able to help with selection of the most optimum treatment to each specific patient.

Keywords: bronchial asthma, induced sputum, cytokines, obesity.

АФК – активные формы кислорода
БА – бронхиальная астма
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ИГКС – ингаляционные глюкокортикостероиды
ИЛ – интерлейкины
ИМ – индуцированная мокрота
ИМТ – индекс массы тела

ИНФ- γ – интерферон- γ
КДБА – короткодействующие β -агонисты
ОБ – объем бедер
ОТ – окружность талии
ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за первую секунду
ФНО- α – фактор некроза опухоли- α
ЛТВ4 – лейкотриен В4

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ожирение приблизилось к рубежам пандемии: за последние годы распространенность ожирения увеличилась в три раза [1]. Более 1,5 млрд взрослого населения планеты имеют избыточный вес – индекс массы тела (ИМТ) >25 кг/м², и более 500 млн – страдают ожирением (ИМТ >30 кг/м²) [2]. Недавние эпидемиологические исследования подтвердили наличие ассоциации избыточного веса и ожирения с бронхиальной астмой (БА) [3]. В настоящее время неоспоримо доказано, что при ожирении повышается риск развития БА и ухудшается контроль над ней, при этом формируется трудноконтролируемый фенотип с проявлениями дозозависимости или резистентности к ингаляционным глюкокортикостероидам (ИГКС) [4]. Взрослые и дети, страдающие БА на фоне ожирения, чаще госпитализируются и дольше пребывают в стационаре, имеют больше дней нетрудоспособности и нуждаются в большем объеме лекарственной терапии, чем пациенты с БА и нормальной массой тела [5, 6].

Несмотря на имеющиеся данные, точные механизмы взаимодействия БА и ожирения остаются неясными. Жировая ткань в настоящее время рассматривается не как пассивный склад энергии, а как важный эндокринный орган с рядом эффектов, в том числе на иммунную систему и цитокиновый профиль.

Эозинофильное воспаление дыхательных путей уже давно считается одним из самых характерных признаков БА [7]. Однако множество исследований, опубликованных с середины 1990-х годов, демонстрировали опровержение данной «аксиомы» [8–10]. На сегодняшний день не вызывает сомнения утверждение о том, что эозинофил является ключевой эффекторной клеткой, участвующей в патогенезе БА. Большинство исследователей считают, что эозинофильные гранулы являются источником большого количества провоспалительных и токсических веществ, главные из них – катионные белки (большой основной протеин, эозинофильный катионный белок, эозинофильный нейротоксин, эозинофильная пероксидаза), которые вызывают деструкцию и десквамацию эпителия слизистой оболочки бронхов, повышают проницаемость сосудов, а также вызывают дегрануляцию тучных клеток. Эозинофилы играют важную роль в выработке «фибриногенных» ростковых факторов, которые стимулируют функциональную активность фибробластов, вырабатывающих коллагены I, III, IV, VIII типов [11, 12]. Коллагены откладываются в базальной мембране, вызывая ее утолщение. Вместе с тем имеется ряд исследований, установивших, что не более 50% больных БА имеют эозинофильное воспаление дыхательных путей [13]; в то же время часто обострения БА происходят в отсутствие эозинофилов в дыхательных путях [14]; кроме того, специфическая антиэозинофильная терапия, например анти-ИЛ-5 и ИЛ-12, оказалась слабоэффективной в естественных условиях [15, 16]. Таким образом, на се-

годняшний день вопрос о существовании нейтрофильного типа воспаления БА уже не вызывает сомнения. Нейтрофилы, являясь главными клетками воспаления, способны проинвестировать значительное повреждение дыхательных путей и вызвать в дальнейшем их гиперреактивность, благодаря способности вырабатывать мощные липидные медиаторы, такие как простагландины, тромбоксаны, лейкотриен В₄ (ЛТВ₄), фактор активации тромбоцитов, активные формы кислорода (АФК), цитокины, например интерлейкины (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8), ген фактора некроза опухоли-α (ФНО-α), которые, по крайней мере, теоретически вовлекаются в развитие БА [17]. Нейтрофильный тип воспаления инициирует оксидативный стресс, который способен приводить к дисфункции, цитолизу и апоптозу эпителиальных клеток.

Цель работы: оценить изменения клеточного состава индуцированной мокроты (ИМ) у больных БА молодого возраста во взаимосвязи с ИМТ и уровнем цитокинов в плазме крови.

Материалы и методы

Согласно поставленной цели обследовано 204 человека: 164 больных БА, которые разделены на 2 группы с учетом ИМТ, группу контроля составили 40 практически здоровых добровольцев. В 1-ю группу включены больные БА с ИМТ от 18 до 25 кг/м², во 2-ю группу вошли больные БА с ИМТ от 30 до 40 кг/м².

Критерии включения: персистирующая БА легкого, среднетяжелого и тяжелого течения; возраст более 18 и менее 44 лет с ранее установленным диагнозом БА; подтвержденная данными спирографии бронхиальная обструкция, носящая обратимый характер [прирост объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) ≥12% и >200 мл от исходного уровня после пробы с 400 мкг сальбутамола]; возможность правильного использования базисных препаратов; адекватная оценка своего состояния (по мнению исследователя). Критерии исключения: обострение БА, возраст старше 44 лет; наличие цереброваскулярных заболеваний (острые нарушения мозгового кровообращения, транзиторные ишемические атаки); заболевания сердца; злокачественные новообразования; тяжелая почечная и печеночная недостаточность; беременные и кормящие грудью женщины; сахарный диабет; хроническая обструктивная болезнь легких.

Больные, независимо от тяжести течения заболевания, при включении в исследование получали базисную терапию и находились вне обострения заболевания в течение последних 2 мес (табл. 1).

Группу контроля составили 40 человек [20(50%) женщин и 20(50%) мужчин], медиана возраста 23 [22; 25] года.

Всем пациентам проводилась оценка наличия избыточного веса и определение степени ожирения в соответствии с рекомендациями ВОЗ на основании определения нескольких показателей: ИМТ, или индекс Кетле, и характер распределения жировой ткани, т.е. отношения окружности талии (ОТ) к объему бедер (ОБ) (ОТ/ОБ). У всех пациентов с ИМТ >30 кг/м² отмечали абдоминально-висцеральное ожирение (отношение ОТ/ОБ >0,85 у женщин и >1,0 у мужчин по Stern и соавт., 1995) [18]. Абдоминальное ожирение вы-

Сведения об авторах:

Собко Елена Альбертовна – д.м.н., доцент каф. внутренних болезней №2 с курсом ПО; зав. отд-нием аллергологии

Демко Ирина Владимировна – д.м.н., проф., зав. каф. внутренних болезней №2 с курсом ПО

Крапошина Ангелина Юрьевна – к.м.н., доцент каф. внутренних болезней №2 с курсом ПО

Локтионова Мария Михайловна – клин. ординатор каф. внутренних болезней №2 с курсом ПО

Гордеева Наталья Владимировна – к.м.н., доцент каф. внутренних болезней №2 с курсом ПО; врач-пульмонолог Краевого ГБУЗ «Краевая клиническая больница»

Контактная информация:

Соловьева Ирина Анатольевна – к.м.н., доцент каф. внутренних болезней №2 с курсом ПО, врач-аллерголог Краевого ГБУЗ «Краевая клиническая больница», e-mail: solovieva.irina@inbox.ru; тел.: 8(913)835-26-43

Таблица 1. Сравнительная характеристика больных БА

Признак	Единицы измерения	БА (ИМТ<25 кг/м ²) (n=91)	БА (ИМТ>30 кг/м ²) (n=73)	Значимость различий
Пол	муж.	Абс/%	37/33,7	$p_{1-2}=0,789$
	жен.	Абс/%	54/66,3	$p_{1-2}=0,789$
Возраст, годы	Me[Q ₁ ;Q ₃]	26[21;32]	33[26;39]	$p_{1-2}<0,001$
Давность заболевания, годы	Me[Q ₁ ;Q ₃]	9 [2;15]	5 [2;13]	$p_{1-2}=0,243$
Общий IgE, МЕ/л	Me[Q ₁ ;Q ₃]	319 [89,8;700,5]	317 [134; 823,5]	$p_{1-2}=0,179$
Курящие	Абс/%	12/10,9	13/9,5	$p_{1-2}=0,253$
Индекс пачка-лет	Me[Q ₁ ;Q ₃]	5 [1,35;5]	7,5 [4,6;30]	$p_{1-2}<0,001$

Примечание. Различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием критерия Манна–Уитни; различия между группами по качественным признакам рассчитаны с использованием критерия χ^2 .

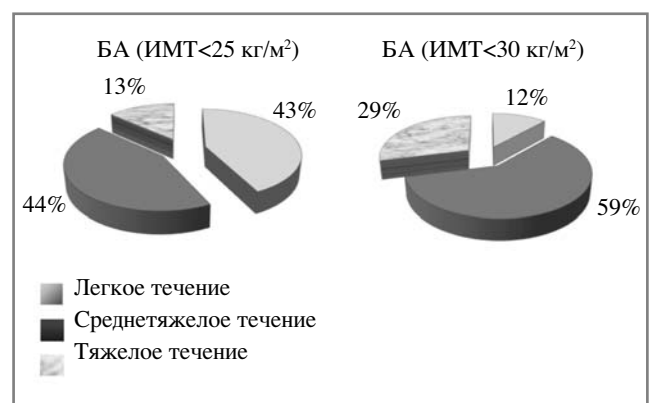
зывает нарушение функции респираторной системы, что связано с избыточным объемом мягких тканей, жировой инфильтрацией грудной клетки, увеличением легочного объема крови [19]. Данные, полученные S.A. Shore (2013) [20], указывают, что не само избыточное накопление жира является фактором риска БА, а именно расположение его в абдоминальной области. Так, абдоминальное ожирение при ОТ у женщин > 88 см и у мужчин > 102 см связано с большим риском развития БА, чем общее ожирение – ИМТ \geq 30 кг/м².

Степень контроля оценивали по критериям GINA и с помощью стандартизованного опросника ACQ -5. Сбор ИМ и подсчет клеточного состава выполняли по общепринятой методике [21, 22]. Определение содержания интерлейкинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-17, ФНО- α , интерферона- γ (ИНФ- γ) в плазме периферической крови производили методом твердофазного иммуноферментного анализа eBioscience (USA).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью прикладных программ IBM SPSS Statistics 19. (91T8Z9GMP93CBSGAEQNXZWMSCUF4VOAZYATE6L8ZKMNAMRUMAJWY5F8DM2HBSBXIHNB615UBFY6M Y2THMJFYUTP2UEM8792M57# «1200» version «190», expires Midnight of Feb 29, 2012, exclusive). Количественные значения представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q₁ и Q₃), где Q₁ – 25-й перцентиль, Q₃ – 75-й перцентиль. Качественные переменные описаны абсолютными и относительными частотами (процентами). При сравнительном анализе групп по количественным признакам использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни (не зафиксировано нормальное распределение выборки, определяемое по методу Колмогорова–Смирнова и критерию Шапиро–Уилка). Для оценки связи признаков применяли корреляционный анализ с расчетом корреляции по методу Спирмена. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При синтропии БА и алиментарного ожирения даже в молодом возрасте и при меньшей длительности заболевания чаще встречаются больные со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания – 89% против 60% в 1-й группе ($p < 0,005$; см. рисунок). В то же время в группе больных с ожирением выраженность бронхообструктивного синдрома более значима, что подтверждается более частыми дневными симптомами астмы ($p = 0,049$) и более высокой по-



Сравнительная характеристика больных БА по степени тяжести.

требностью в короткодействующих β -агонистах (КДБА; $p = 0,003$).

При сравнении показателей периферической крови мы отметили, что в обеих группах имелась тенденция к лейкоцитозу (табл. 2). Вместе с тем у больных 2-й группы регистрировалось более высокое содержание нейтрофилов в периферической крови по сравнению с пациентами, имеющими нормальный ИМТ, и контролем. Так, нейтрофилез в клиническом анализе крови выявлен у 65% больных 2-й группы (табл. 2).

На сегодняшний день ряд авторов выделяют 4 основных типа воспаления при БА: эозинофильное (эозинофилы > 3% в ИМ), нейтрофильное (нейтрофилы > 61%), смешанное гранулоцитарное (эозинофилы > 3% + нейтрофилы > 61%) и малогранулоцитарное (эозинофилы и нейтрофилы в пределах нормы) [23, 24].

По результатам исследования клеточного состава ИМ в целом по группе установлено ряд особенностей. Полученные результаты свидетельствуют о преобладании эозинофильного типа воспаления в группе больных с ИМТ менее 25 кг/м², тогда как у пациентов с ожирением определялось малогранулоцитарное воспаление (табл. 3).

Однако при анализе клеточного состава ИМ в зависимости от степени тяжести заболевания отмечено, что ни одну из исследуемых групп нельзя причислить к какому-то одному известному биофенотипу БА.

Мы отметили, что у больных БА с ИМТ менее 25 кг/м² при легком течении заболевания 1/4 пациентов (23%) имели малогранулоцитарное воспаление, а большинство паци-

Таблица 2. Клинический анализ крови у лиц молодого возраста, страдающих БА, в зависимости от ИМТ

Показатель	БА (ИМТ<25 кг/м ²) (n=91) Me[Q ₁ ;Q ₃]	БА (ИМТ>30 кг/м ²) (n=73) Me[Q ₁ ;Q ₃]	Контрольная группа Me[Q ₁ ;Q ₃]
Гемоглобин, г/л	138 [125,5;149,5]	139 [131,5;149,5]	140 [130;160]
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,94 [4,59;5,3]**	4,97 [4,71;5,26]**	4,2 [4,2;4,4]
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,8 [6,7;11,6]**	9,6 [7,37;13,1]**	7,9 [7,8;8,1]
Нейтрофилы, кл/л	5,83 [3,7;8,3]*,**	7,72 [4,39;10,2]**	3,7 [3,0;4,2]
Лимфоциты, кл/л	2,2 [1,7;2,8]	2 [1,5;2,7]	2,1 [1,2;2,5]
Эозинофилы, кл/л	0,1 [0;0,3]	0,08[0;0,2]	0,1 [0;0,2]
Моноциты, кл/л	0,77 [0,6;1,02]	0,7 [0,5;0,9]	0,6 [0,3;0,8]
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	236 [206,5;273]	257,5 [226,5;297]	270 [255;345]
СОЭ, мм/ч	5 [3;9]**	8 [6;13]**	3 [2;4]

Примечание. Различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием критерия Манна–Уитни. * $p<0,05$ – достоверность различий между исследуемыми группами; ** $p<0,05$ – достоверность различий между исследуемыми группами и контролем.

Таблица 3. Клеточный состав ИМ у лиц молодого возраста, страдающих БА, в зависимости от ИМТ

Показатель, %	БА (ИМТ<25 кг/м ²) (n=91) Me[Q ₁ ;Q ₃]	БА (ИМТ>30 кг/м ²) (n=73) Me[Q ₁ ;Q ₃]	Значимость различий
Нейтрофилы	13 [7;23]	23 [18;64]	$p_{1-2}=0,026$
Эозинофилы	10 [2;18]	1 [0;4]	$p_{1-2}<0,001$
Лимфоциты	0 [0;0]	0 [0;0]	
Макрофаги	10 [3;46]	14 [4;32]	$p_{1-2}=0,497$

Примечание. Различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием критерия Манна–Уитни.

Таблица 4. Клеточный состав ИМ (в %) у лиц молодого возраста, страдающих БА с ИМТ от 18 до 25 кг/м², в зависимости от степени тяжести заболевания (Me[Q₁;Q₃])

Степень тяжести БА	Тип воспаления	Нейтрофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Макрофаги
Легкая (n=36)	Эозинофильный	19 [8;23]	11 [4;18]*	0 [0;0]	10 [2;52]*
	Малогранулоцитарный	15 [3;23]	0 [0;0]	0 [0;0]	4 [4;10]
Средняя (n=43)	Эозинофильный	15 [9;24]	12 [10;22]	0 [0;0]	20 [9;49]*,**
	Малогранулоцитарный	8 [5;17]	0 [0;2]	0 [0;0]	3 [2;10]
Тяжелая (n=12)	Эозинофильный	13 [6;20]	29 [20;82]**	0 [0;0]	4 [4;31]

Примечание. Различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием критерия Манна–Уитни.

* Достоверность различий внутри исследуемых групп, при $p<0,05$. ** Достоверность различий между исследуемыми группами, при $p<0,05$.

ентов (77%) относились к эозинофильному биофенотипу. Среднетяжелое течение БА в этой группе характеризовалось практически равным разделением на эозинофильный (55%) и малогранулоцитарный (45%) биотип. При тяжелом течении БА подавляющее большинство пациентов имели эозинофильный тип воспаления, и всего у 1 пациента отмечен малогранулоцитарный биологический фенотип. Согласно нашему исследованию, установлено, что нарастание эозинофилии ИМ происходит параллельно степени тяжести заболевания (табл. 4).

При анализе клеточного состава ИМ у пациентов с повышенным ИМТ регистрировали преимущественно малогранулоцитарное воспаление (эозинофилы<3% + нейтрофилы<61%). При этом с тяжестью течения БА встречаемость данного биотипа снижалась. Так, в группе с легким течением малогранулоцитарное воспаление регистрировали у абсолютного числа больных (99%), в группе со среднетяжелым течением – у 67% пациентов, в группе с тяжелым течением заболевания – у 40% пациентов. Наиболее разноплановыми в плане фенотипа воспаления оказались

Таблица 5. Клеточный состав ИМ (в%) у лиц молодого возраста, страдающих БА с ИМТ от 30 до 40 кг/м², в зависимости от степени тяжести заболевания (Me[Q₁;Q₃])

Степень тяжести БА	Тип воспаления	Нейтрофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Макрофаги
Легкая (n=8)	Малогранулоцитарный	16 [10;36]	2 [2;4]	0 [0;0]	50 [18;63]
	Малогранулоцитарный	5,5 [3;22]	0,5 [0;1]	0 [0;0]	11,5 [2;21]
Средняя (n=44)	Эозинофильный	31 [14;49]	7,5 [5,5;23,5]	0 [0;0]	28,5 [17,8;35,5]
	Смешанный гранулоцитарный	65 [64;66]	17 [2;22]	0 [0;0]	6 [4;9]
Тяжелая (n=21)	Нейтрофильный	76,5 [67;85]	0 [0;0]	0 [0;0]	6 [2;21]
	Малогранулоцитарный	28 [20;35,5]	2 [1,5;2,5]	0 [0;0]	40 [13;63]

Примечание. Различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием критерия Манна–Уитни.

* Достоверность различий внутри исследуемых групп, при $p < 0,05$. ** Достоверность различий между исследуемыми группами, при $p < 0,05$.

Таблица 6. Уровень цитокинов в периферической крови у лиц молодого возраста, страдающих БА с ИМТ от 18 до 25 кг/м², в зависимости от степени тяжести заболевания (Me[Q₁;Q₃])

Уровень цитокинов	Тип воспаления	Легкая степень (n=36)		Средняя степень (n=43)		Тяжелая степень (n=12)	Контроль
		эозинофильный	малогранулоцитарный	эозинофильный	малогранулоцитарный	эозинофильный	
ФНО- α , пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	0,3 [0,15; 0,65]	1,6 [0,50; 2,30]*,**	11,15 [9,60; 13,49]*,**	19,8 [10,56; 30,70]*,**	13,59 [11,03; 20,29]*,**	7,0 [1,28; 9,74]
ИЛ-6, пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	1 [0,5;1,79]	1 [0,97;7,13]	1,7 [1,48; 5,50]*	2,43 [1,16; 15,76]	2,6 [2,26;4,9]	0,95 [0,5;4,7]
ИЛ-4, пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	5,39 [3,89; 6,39]**	2,4 [1,52; 3,94]	7,5 [5,21; 11,99]*,**	4,1 [0,48; 5,96]	8,14 [5,69; 8,15]*,**	2,2 [0,96; 3,69]
ИЛ-15, пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	51,5 [27,88; 55,94]**	42,4 [14,97; 77,29]**	52,9 [33,67; 66,73]**	13,8 [12,78; 92,08]**	96,36 [46,46; 195,54]*,**	0,49 [0,45; 1,38]
ИЛ-2, пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	3,8 [2,19; 4,73]	2,04 [1,25; 3,86]	4,14 [4,01; 4,84]	2,79 [1,43; 4,34]	4,08 [3,27; 4,15]	3,2 [2,82;3,65]
ИЛ-10, пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	4,9 [3,05; 5,26]	3,1 [2,78; 3,67]	3,2 [2,83; 3,45]	2,38 [1,61; 3,31]	2,40 [1,63; 3,07]**	4,34 [3,3; 4,4]
ИНФ- γ , пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	3,8 [2,22; 4,36]	4,78 [2,81; 5,32]	4,75 [3,36; 6,37]	4,88 [4,31; 6,34]	7,5 [5,43; 9,57]*,**	4,3 [3,4; 4,4]
ИЛ-8, пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	6,9 [6,36; 7,38]	6,3 [5,27; 6,87]	7,9 [7,37; 10,24]	5,29 [4,37; 10,24]	9,3 [6,39; 10,28]	7,5 [6,5; 8,4]
ИЛ-17, пг/мл	Me[Q ₁ ;Q ₃]	1,1 [0,43; 1,40]	0,88 [0,29; 1,38]	1,0 [0,38; 1,24]	0,88 [0,35; 1,48]	1,12 [0,66; 1,88]	1,3 [0,59; 1,39]

Примечание. Различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием критерия Манна–Уитни.

* $p < 0,05$ – достоверность различий между исследуемыми группами; ** $p < 0,05$ – достоверность различий между исследуемыми группами и контролем.

пациенты с избыточной массой тела и БА средней степени тяжести: 67% пришлось на долю малогранулоцитарного типа воспаления, 17% – на эозинофильный тип, 3% – на смешанный гранулоцитарный тип. При синтропии ожирения и БА тяжелого течения большая доля пришлось на нейтрофильный тип воспаления – 60% и 40% составило малогранулоцитарный биотип (табл. 5).

По данным литературы, при фенотипе воспаления в бронхиальном дереве, характеризующимся эозинофилией мокроты, таблетированные и ингаляционные формы ГКС дают лучший клинический эффект, чем при фенотипах, характеризующихся неэозинофильным или нейтрофильным воспалением [25, 26]. Известно, что нейтрофилы, секретир-

рующие биологически активные вещества, в частности факторы воспаления, могут приводить к образованию АФК, гиперсекреции мокроты и повреждению дыхательных путей. Связь нейтрофильного воспаления с терапевтической резистентностью обуславливает прогрессирование бронхообструкции [27]. Мы провели анализ изменения уровней цитокинов в зависимости от ИМТ, степени тяжести БА и типа воспаления.

В группе пациентов, имеющих нормальную массу тела, при легком течении заболевания, как при эозинофильном типе воспаления, так и при малогранулоцитарном, вне зависимости от степени тяжести регистрировали повышение ИЛ-15 по сравнению с контрольной группой.

Таблица 7. Уровень цитокинов в периферической крови у лиц молодого возраста, страдающих БА с ИМТ от 30 до 40 кг/м², в зависимости от степени тяжести заболевания (Me[Q₁;Q₃])

Уровень цитокинов	Тип воспаления	Легкая степень (n=8)		Средняя степень (n=44)		Тяжелая степень (n=21)		Контроль
		малогранулоцитарный	эозинофильный	малогранулоцитарный	смешанный	нейтрофильный	малогранулоцитарный	
ФНО-α	Me[Q ₁ ;Q ₃]	6,0 [2,0;7,5]	13,2 [10,47; 53,20]**	8,34 [5,88; 15,05]	64,4 [19,49; 109,37]**	25,04 [15,62; 64,20]**	37,71 [28,51; 43,16]**	7,4 [2,8;10,7]
ИЛ-6	Me[Q ₁ ;Q ₃]	2,3 [0,1;2,5]	1,74 [1,11;2,7]	2,0 [1,6;2,75]	3,78 [1,26; 6,30]**	3,69 [2,27; 7,46]**	3,11 [2,61;3,28]	1,6 [0,7;4,5]
ИЛ-4	Me[Q ₁ ;Q ₃]	0,42 [0,38; 0,45]**	9,89 [7,86; 19,4]**	5,42 [0,68; 7,40]**	8,93 [6,50; 11,37]**	5,43 [0,88; 15,54]**	5,89 [1,88; 10,44]**	1,9 [0,6;3,3]
ИЛ-15	Me[Q ₁ ;Q ₃]	21,9 [17,8; 33,9]**	23,2 [3,14; 37,3]**	4,41 [4,26; 21,38]**	6,46 [3,32; 9,60]**	97,05 [83,13; 112,14]**	31,5 [28,42; 50,04]**	0,49 [0,45; 1,38]
ИЛ-2	Me[Q ₁ ;Q ₃]	4,3 [3,88; 4,98]	5,41 [3,26; 6,45]**	3,49 [3,25; 4,25]	5,53 [4,80; 6,25]**	10,4 [8,36; 15,37]**	4,9 [4,80; 5,12]**	3,6 [2,9; 4,9]
ИЛ-10	Me[Q ₁ ;Q ₃]	2,57 [2,55; 3,40]**	4,24 [3,19; 4,81]	2,54 [2,48; 2,59]**	4,99 [4,49; 5,49]**	3,89 [2,38; 4,52]	1,83 [1,48; 2,63]**	3,8 [3,0; 4,6]
ИНФ-γ	Me[Q ₁ ;Q ₃]	6,59 [6,59; 7,49]**	15,5 [7,48; 19,59]**	7,66 [7,49; 15,52]**	29,58 [29,57; 29,58]**	23,22 [7,78; 38,49]**	15,98 [8,49; 33,39]**	5,6 [2,2; 8,4]
ИЛ-8	Me[Q ₁ ;Q ₃]	7,49 [7,25; 8,49]	13,59 [12,49; 14,49]**	7,9 [5,39; 14,49]	15,49 [15,48; 15,49]**	19,98 [8,33; 20,49]**	13,94 [8,73; 17,9]**	8,3 [6,5;26,1]
ИЛ-17	Me[Q ₁ ;Q ₃]	2,49 [1,49; 2,59]**	2,49 [2,40; 3,13]**	2,4 [1,49; 2,4]**	3,25 [3,2;3,3]**	3,94 [2,39; 4,39]**	2,49 [2,37; 2,99]**	1,2 [0,6;1,6]

Примечание. Различия между группами по количественным признакам рассчитаны с использованием критерия Манна–Уитни.

* $p < 0,05$ – достоверность различий между исследуемыми группами; ** $p < 0,05$ – достоверность различий между исследуемыми группами и контролем.

В группе больных с эозинофильным биотипом определялось статистически значимое повышение Th2-зависимого ИЛ-4 в сравнении с практически здоровыми. Кроме того, уровень ИЛ-4 нарастал параллельно степени тяжести заболевания ($p < 0,05$). Среднетяжелое и тяжелое течение этого биофенотипа характеризовалось и значимым повышением Th1-зависимого ФНО-α в сравнении с контролем. При тяжелом течении БА, помимо нарастания ФНО-α, ИЛ-4, ИЛ-15, статистически значимо увеличивалась концентрация Th1-зависимого ИНФ-γ, при одновременном снижении противовоспалительного ИЛ-10 (табл. 6).

Таким образом, параллельно утяжелению заболевания при эозинофильном воспалении отмечалось статистически значимое увеличение в периферической крови уровня ИЛ-4, ФНО-α, ИЛ-15, ИНФ-γ, при малогранулоцитарном воспалении – повышение концентрации ФНО-α, ИЛ-15.

При исследовании баланса цитокинов в плазме крови в группе пациентов с повышенной массой тела и имеющих малогранулоцитарный тип воспаления по данным ИМ, в зависимости от степени тяжести заболевания, выявлено ста-

тистически значимое увеличение концентрации ИЛ-15, ИНФ-γ, ИЛ-17 и снижение ИЛ-10 в сравнении с контролем. Одновременно во всех группах параллельно степени тяжести БА отмечалось увеличение ИНФ-γ. Кроме того, при тяжелом течении заболевания регистрировали статистически большие уровни ФНО-α, ИЛ-15, ИЛ-8 и достоверно меньшую концентрацию ИЛ-10 в сравнении с легким и среднетяжелым течением БА.

Анализ изменения концентрации цитокинов в крови при малогранулоцитарном биотипе показал более высокие значения ИЛ-2 и ИНФ-γ у пациентов с избыточной массой тела во всех исследуемых группах в зависимости от степени тяжести, а также ФНО-α при легком течении заболевания.

Эозинофильный биотип у пациентов с ИМТ более 30 кг/м² характеризовался высокими значениями ФНО-α, ИЛ-4, ИЛ-15, ИЛ-2 и ИНФ-γ по сравнению с изучаемыми показателями здоровых лиц.

Интересные изменения отмечены при смешанном фенотипе воспаления: выявлено статистически значимое уве-

личение концентрации всех изучаемых цитокинов: провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α ; Th1-зависимых ИЛ-2, ИЛ-15, ИНФ- γ и Th2-зависимых ИЛ-4, ИЛ-10, Th17 – ИЛ-17 (табл. 7). Более того, зарегистрированы самые высокие уровни ФНО- α , ИНФ- γ , ИЛ-10 среди всех выявленных биотипов ($p < 0,05$).

Нейтрофильный тип воспаления показал аналогичную трансформацию цитокинового профиля, за исключением ИЛ-10, который статистически значимо не отличим от контроля ($p > 0,05$). При этом биотипе получены самые высокие концентрации ИЛ-15, ИЛ-2, ИЛ-8 и ИЛ-17 в сравнении с остальными типами воспаления и контролем ($p < 0,05$).

Выявлены статистически значимые различия между группами в уровне ИЛ-17 в периферической крови: наиболее высокое содержание ИЛ-17 регистрировали у больных БА с ожирением как в сравнении с показателями больных с нормальным ИМТ, так и с практически здоровыми.

Кроме того, мы установили положительную корреляционную взаимосвязь между уровнем ИЛ-17 в периферической крови и ИМТ ($r = 0,46$, $p < 0,001$). Известно, что основная функция Th17-клеток заключается в привлечении и активации нейтрофилов через продукцию ИЛ-8, ИЛ-6 и подавлении нейтрофильного апоптоза, что существенно снижает эффекты стероидной терапии.

При проведении корреляционного анализа, как в зависимости от ИМТ, так и по группе в целом, не установлено корреляционных взаимосвязей между уровнем эозинофилов в периферической крови и содержанием эозинофилов в ИМ, между уровнем нейтрофилов в периферической крови и содержанием нейтрофилов в ИМ. Вероятно, имеется необходимость внедрения в рутинную практику стационара методики получения ИМ при неэффективности подобранной базисной терапии для определения принадлежности к определенному биофенотипу с целью назначения адекватного противовоспалительного лечения.

Результаты корреляционного анализа продемонстрировали взаимосвязь между клеточным составом ИМ и уровнем цитокинов в крови в определенных биофенотипах. Так, при эозинофильном фенотипе выявлена положительная взаимосвязь между содержанием эозинофилов ИМ и ИЛ-4 ($r = 0,41$; $p = 0,045$).

В группах с малогранулоцитарным воспалением определяли положительные взаимосвязи между содержанием нейтрофилов в ИМ и концентрацией ИЛ-15 ($r = 0,81$; $p < 0,001$), ИЛ-2 ($r = 0,66$; $p < 0,001$), ИЛ-8 ($r = 0,68$; $p < 0,001$), ИЛ-17 ($r = 0,58$; $p = 0,002$), а также выявлена прямая взаимосвязь между уровнем нейтрофилов ИМ и ИНФ- γ ($r = 0,39$; $p = 0,046$).

При нейтрофильном типе воспаления получены положительные корреляционные взаимосвязи между уровнем нейтрофилов ИМ и ИЛ-17 ($r = 0,71$; $p = 0,031$), ИЛ-6 ($r = 0,41$; $p = 0,033$).

Роль нейтрофильного воспаления в формировании фенотипа БА с ожирением подтверждается установлением положительной корреляционной взаимосвязи между содержанием нейтрофилов в ИМ и итоговым баллом теста по оценке контроля симптомов астмы ACQ-5 ($r = 0,69$, $p < 0,001$), кроме того, регистрировалась отрицательная взаимосвязь между уровнем нейтрофилов в крови и результатом теста по контролю над астмой – АСТ ($r = -0,47$, $p = 0,004$).

При интерпретации результатов анализа ИМ имеются факторы, которые могут влиять на ее клеточный профиль. Так, известно, что прием ИГКС, а также длительность базисной терапии могут способствовать повышению содержания нейтрофилов [28, 29] и снижению уровня эозинофилов в дыхательных путях [30]. В данной работе мы не получили значимых корреляционных взаимосвязей между уровнем нейтрофилов ИМ, дозой ИГКС и давностью терапии.

Заключение

Оценка эндотипа перед началом базисной противовоспалительной терапии у больных с впервые диагностированной БА сможет помочь в подборе наиболее оптимального лечения каждому конкретному больному. Кроме того, стоит учитывать тот факт, что существует вероятность изменения воспалительных клеточных фенотипов с течением времени, а значит, имеется необходимость в повторном исследовании мокроты.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- World Health Organization. Obesity and Overweight. Fact Sheet No 311; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html> Date last accessed: May 5, 2011.
- Telenga ED, Tideman SW, Kerstjens HAM, ten Hacken NHT, Timens W, Postma DS, van den Berge M. Obesity in asthma: more neutrophilic inflammation as a possible explanation for a reduced treatment response. *Allergy*. 2012; 67(8): 1060-1068.
- Beuther DA, Sutherland ER. Overweight, obesity, and incident asthma: A meta-analysis of prospective epidemiologic studies. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007; 175: 661-666. doi: 10.1164/rccm.200611-1717OC
- Camargo CA Jr, Boulet LP, Sutherland ER, Busse WW, Yancey SW, Emmett AH, Ortega HG, Ferro TJ. Body mass index and response to asthma therapy: Fluticasone propionate/salmeterol versus montelukast. *J Asthma*. 2010; 47: 76-82.
- Saint-Pierre P, Bourdin A, Chanez P, Daures JP, Godard P. Are overweight asthmatics more difficult to control? *Allergy*. 2006; 61: 79-84. doi: 10.1111/j.1398-9995.2005.00953.x
- Sutherland TJJ, Cowan JO, Young S, Goulding A, Grant AM, Williamson A, Brassett K, Herbison GP, Taylor DR. The association between obesity and asthma interactions between systemic and airway inflammation. *All AJRCCM*. 2008; 178 (5).
- Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barnéon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simony-Lafontaine J, Godard P. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med*. 1990; 323: 1033-1039. doi: 10.1056/NEJM199010113231505
- Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol*. 1995; 95: 843-52.
- Turner MO, Hussack P, Sears MR, Dolovich J, Hargreave FE. Exacerbations of asthma without sputum eosinophilia. *Thorax*. 1995; 50: 1057-1061.
- Douwes J, Gibson P, Pekkanen J, Pearce N. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. *Thorax*. 2002; 57: 643-648.
- Kay AB, Phipps S, Robinson DS. The role for eosinophils in airway remodeling in asthma. *Trends Immunol*. 2004; 25: 477-482. doi: 10.1016/j.it.2004.07.006
- Reuter S, Heinz A, Sieren M, Wiewrodt R, Gelfand EW, Stassen M, Buhl R, Taube C. Mast cell – derived tumor necrosis factor is essential for allergic airway disease. *Eur Respir J*. 2008; 31: 773-782. doi: 10.1183/09031936.00058907
- Douwes J, Gibson P, Pekkanen J, Pearce N. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. *Thorax*. 2002; 57: 643-648.

14. Leckie MJ, Brinke A, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, Mathur AK, Cowley HC, Chung KF, Djukanovic R, Hansel TT, Holgate ST, Sterk PJ, Barnes PJ. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet*. 2000; 356: 2144-2148.
15. Bryan SA, O'Connor BJ, Matti S, Leckie MJ, Kanabar V, Khan J, Warrington SJ, Renzetti L, Rames A, Bock JA, Boyce MJ, Hansel TT, Holgate ST, Barnes PJ. Effects of recombinant human interleukin-12 on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet*. 2000; 356: 2149-2153.
16. Kips JC, O'Connor BJ, Langley SJ, Woodcock A, Kerstjens HA, Postma DS, Danzig M, Cuss F, Pauwels RA. Effect of SCH55700, a humanised anti-human interleukin-5 antibody, in severe persistent asthma: a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 167: 1655-1659. doi:10.1164/rccm.200206-525OC
17. Wilson RH, Whitehead GS, Nakano H, Free ME, Kolls JK, Cook DN. Allergic sensitization through the airway primed Th17- dependent neutrophilia and airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009; 180: 720-730.
18. Stern JS, Hirsch J, Blair SN, Foreyt JP, Frank A, Kumanyika SK, Madans JH, Marlatt GA, St Jeor ST, Stunkard AJ. Weighing the options: criteria for evaluating weight-management programs. The Committee to Develop Criteria for Evaluating the Outcomes of Approaches to Prevent and Treat Obesity. *Obes Res*. 1995; 3 (6): 591-604.
19. Rio-Navarro B, Cisneros-Rivero M, Berber-Eslava A, Espinola-Reyna G, Sienra-Monge J. Exercise induced bronchospasm in asthmatic and non-asthmatic obese children. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2000; 28 (1): 5-11.
20. Shore SA. Obesity and asthma: location, location, location. *Eur Respir J*. 2013; 41 (2): 253-254. doi: 10.1183/09031936.00128812
21. Авдеев С.Н., Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. Применение метода индуцированной мокроты для оценки интенсивности воспаления дыхательных путей. *Пульмонология*. 1998; 2: 81-85. [Avdeev SN, Anayev EK, Chuchalin AG. Use of a method of the induced sputum for assessment of intensity of an inflammation of respiratory tracts. *Pul'monologiya*. 1998;2:81-85. (In Russ.)]
22. Kips JC, Fahy JV, Hargreave FE. Methods for sputum induction and analysis of induced sputum: a method for assessing airway inflammation in asthma. *Eur Respir J*. 2008; 11: 9-12.
23. Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, Gibson PG. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirology*. 2006; 11:54-61.
24. Ненашева Н.М. Современное представление о фенотипах бронхиальной астмы. *Фарматека*. 2013; 4: 257. [Nenasheva N. M. The current understanding of the phenotypes of bronchial asthma. *Pharmateca*. 2013; 4: 257. (In Russ.)]
25. Newton R, Leigh R, Glembycz M. Pharmacological strategies for improving the efficacy and therapeutic ratio of glucocorticoids in inflammatory lung disease. *Pharmacology and Therapeutics*. 2010;125:286-327.
26. Трофимов В., Миронова Ж. Терапевтически резистентная астма. *Врач*. 2012;3:2-4. [Trofimov V, Mironova Zh. Therapeutically refractory asthma. *Vrach*. 2012;3: 2-4. (In Russ.)]
27. Федосеев Г.Б., Трофимов В.И., Рогачева Н.Н., Разумовская Т.С. Роль нейтрофилов и бактериальной инфекции респираторного тракта у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких. *Росс. аллергологический журн*. 2011; 2: 34-43. [Fedoseev GB, Trofimov VI, Rogacheva NN, Razumovskaya TS. Role of neutrophils and bacterial infection of a respiratory tract at patients with bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Russ allergolog J*. 2011; 2: 34-43. (In Russ.)]
28. Cox G. Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes. *J Immunol*. 1995; 154: 4719-4725.
29. Shin B, Kwon HS, Park SY, Kim TB, Moon HB, Cho YS. The transition of sputum inflammatory cell profiles is variable in stable asthma patients. *Asia Pac Allergy*. 2017; 7 (1): 19-28. doi: 10.5415/apallergy.2017.7.1.19
30. Cowan DC, Cowan JO, Palmay R, Williamson A, Taylor DR. Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma. *Thorax*. 2010; 65: 384-390.

Поступила 07.03.2017