

© ПИРОГОВ А. Б., ПРИХОДЬКО А. Г., ПЕРЕЛЬМАН Ю. М.

УДК: [(576.385:616.24-008.8)+(577.152.193:616.428)]

DOI: 10.20333/25000136-2022-6-58-63

## Клеточный профиль мокроты и активность миелопероксидазы у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей

А. Б. Пирогов, А. Г. Приходько, Ю. М. Перельман

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, Благовещенск 675000, Российская Федерация

**Цель исследования.** Изучить паттерн воспаления, активность миелопероксидазы и содержание эпителия в бронхах больных бронхиальной астмой (БА) с разными формами гиперреактивности дыхательных путей на физические стимулы.

**Материал и методы.** У 142 больных БА с разными формами гиперреактивности дыхательных путей на не прямые провоцирующие триггеры изучали степень контроля над астмой, функцию внешнего дыхания, клеточный состав индуцированной мокроты. В цитологических мазках подсчитывали число нейтрофилов, эозинофилов, клеток бронхиального эпителия. Проводили цитохимическое исследование активности миелопероксидазы в нейтрофилах мокроты.

**Результаты.** Установлено, что больные БА с сочетанной гиперреактивностью дыхательных путей на различные физические стимулы имеют более низкий контроль над астмой, более высокое количество эозинофилов в мокроте, уровень миелопероксидазы в нейтрофилах, а также более низкий процент содержания неповреждённого бронхиального эпителия по сравнению с больными с изолированной холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. Была найдена тесная связь между уровнем эозинофилов и количеством неповреждённых эпителиоцитов ( $R_s = -0,52$ ,  $p < 0,001$ ). У больных с сочетанной гиперреактивностью дыхательных путей найдена связь между активностью миелопероксидазы в нейтрофилах и степенью выраженности реакции бронхов на изокапническую гипервентиляцию холодным воздухом ( $R = -0,33$ ;  $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Активация пероксидазной функции нейтрофилов и стимуляция активности эозинофилов, приводящая к деструкции эпителия и уменьшению содержания эпителиоцитов нормального строения, связаны с большей выраженностью холодовой гиперреактивности дыхательных путей и присоединением реакции на другие стимулы.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, гиперреактивность дыхательных путей, бронхиальное воспаление, активность миелопероксидазы, бронхиальный эпителий.

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

**Для цитирования:** Пирогов АБ, Приходько АГ, Перельман ЮМ. Клеточный профиль мокроты и активность миелопероксидазы у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Сибирское медицинское обозрение.* 2022;(6):58-63. DOI: 10.20333/25000136-2022-6-58-63

## Sputum cellular profile and myeloperoxidase activity in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness

A. B. Pirogov, A. G. Prikhodko, J. M. Perelman

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveshchensk 675000, Russian Federation

**The aim of the research.** To study the inflammation pattern, myeloperoxidase activity and the content of the epithelium in the bronchi of patients with bronchial asthma (BA) with different forms of airway hyperresponsiveness to physical stimuli.

**Material and methods.** The degree of asthma control, pulmonary function, and cellular composition of induced sputum were studied in 142 BA patients with various forms of airway hyperresponsiveness to indirect provoking triggers. In cytological smears, the number of neutrophils, eosinophils, bronchial epithelial cells was counted. A cytochemical study of myeloperoxidase activity in sputum neutrophils was carried out.

**Results.** It has been established that BA patients with combined airway hyperresponsiveness to various physical stimuli have lower asthma control, a higher number of eosinophils in sputum, a higher level of myeloperoxidase in neutrophils, and a lower percentage of intact bronchial epithelium compared to patients with isolated cold airway hyperresponsiveness. A close relationship was found between the level of eosinophils and the number of intact epitheliocytes ( $R_s = -0,52$ ,  $p < 0,001$ ). In patients with combined airway hyperresponsiveness, a relationship was found between the activity of myeloperoxidase in neutrophils and the severity of the bronchial response to isocapnic hyperventilation with cold air ( $R = -0,33$ ;  $p < 0,05$ ).

**Conclusion.** Activation of the peroxidase function of neutrophils and stimulation of the eosinophil activity, which leads to destruction of the epithelium and a decrease in the content of normal epitheliocytes, are associated with a greater severity of airway hyperresponsiveness to cold and the addition of reactions to other stimuli.

**Key words:** bronchial asthma, airway hyperresponsiveness, bronchial inflammation, myeloperoxidase activity, bronchial epithelium.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

**Citation:** Pirogov AB, Prikhodko AG, Perelman JM. Sputum cellular profile and myeloperoxidase activity in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness. *Siberian Medical Review.* 2022;(6):58-63. DOI: 10.20333/25000136-2022-6-58-63

### Введение

Клинический феномен холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ГДП), развивающийся у пациентов с бронхиальной астмой (БА) в условиях холодного климата и негативных воздействий на организм низких температур атмосферного воздуха, ассоциируется

со смешанным клеточным паттерном бронхиального воспаления [1]. В регуляции холодового бронхоспазма, структурной трансформации и ремоделировании бронхов больных с ХГДП активно участвуют не только индукторы Th2 иммунного ответа, но и стимуляторы иммунных реакций Th1 типа, связанные с нейтрофильным

сегментом воспаления [2]. Деструкция эпителиальной паренхимы и фиброз соединительнотканной стромы, лежащие в основе ремоделирования бронхов, обусловлены действием активных форм кислорода (АФК), синтезируемых в процессе респираторного взрыва нейтрофилов, а также факторов роста, приоритетное значение среди которых придается TGF- $\beta$ 2, инициирующему апоптоз эпителия и дифференцировку пролиферирующих фибробластов в миофибробласты и гладкие миоциты [3, 4]. Помимо АФК, при респираторном взрыве нейтрофилов продуцируются активные формы галогенов (АФГ). Генератором гипогалоидных кислот и АФГ выступает миелопероксидаза (МПО), депонированная в больших количествах в лизосомных гранулах нейтрофилов и высвобождаемая во внеклеточное пространство при дегрануляции [5]. Внутриклеточное образование АФК вызывает активацию нуклеарного фактора карра В (NF- $\kappa$ B) [6] с последующим кодированием экспрессии генов Th1 цитокинов, отвечающих за пролиферацию, адаптацию, апоптоз клеток и активность воспаления при БА [7].

Хорошо изученным цитотоксическим фактором, провоцирующим деструкцию бронхиального эпителия, является эозинофильный катионный протеин (ЕСР), продуцируемый эозинофилами, инфильтрирующими слизистую оболочку дыхательных путей больных БА. Помимо участия в эпителиальной деструкции, ЕСР способствует ремоделированию бронхов за счёт стимуляции активности фибробластов, а также бронхоспазму вследствие повреждения лейомиоцитов [8]. Зависимость гиперреактивности бронхов при БА от эозинофильного воспаления в значительной мере обусловлена способностью эозинофилов к экзоцитозу цистеиниловых лейкотриенов (LTC 4, LTD 4, LTE 4), синтезируемых в эозинофильных гранулах и обладающих эффектом мощной бронхоконстрикции [9].

Приведённые факты свидетельствуют о многообразии стимулирующего влияния эозинофилов и нейтрофилов на формирование гиперреактивности и ремоделирования дыхательных путей при БА, что может иметь отношение к воспалительным механизмам развития болезни с различными типами реакции бронхов на действие физических триггеров.

Настоящая работа предпринята с целью сравнительной оценки взаимосвязи между бронхиальными эозинофилами и нейтрофилами, активностью миелопероксидазы и содержанием эпителия в бронхах больных БА с холодовой ГДП: изолированной и в сочетании с реакцией бронхов на другие непрямые бронхопровокационные стимулы.

### Материал и методы

В исследовании приняли участие 142 больных обоего пола, в возрасте 18-60 лет, с диагнозом БА неаллергического фенотипа, лёгкого и среднетяжелого течения с ГДП на непрямые провоцирующие триггеры: изокапническую гипервентиляцию холодным (-20 °С) воздухом (ИГХВ), дозированную физическую нагрузку (ДФН), ультразвуковую ингаляцию дистиллированной водой (ИДВ) и гипертоническим раствором (4,5 % NaCl) (ИГР).

У больных изучали степень контроля над астмой, функцию внешнего дыхания, исследовали образцы микропрепаратов индуцированной мокроты (ИМ). Клинические симптомы оценивали по данным валидизированного вопросника Asthma Control Test (ACT) в баллах (Quality Metric Inc., 2002), вентиляционную функцию легких – при стандартной спирометрии на аппарате Easy on-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария) с определением исходных показателей параметров кривой поток-объем форсированного выдоха (ФЖЕЛ, ОФВ<sub>1</sub>, ОФВ<sub>1</sub>/ЖЕЛ) и их изменений после пробы с  $\beta$ 2-агонистом короткого действия (сальбутамол, 400 мкг).

Исследование ИМ проводили не позднее, чем в течение 2 часов после получения. Цитологические мазки изготавливали стандартным методом Кост и высушивали на воздухе в течение 5-10 минут при температуре 37 °С путём помещения в вентилируемый термостат ТМ-2. После фиксации на протяжении 10 минут в парах 40 % раствора формалина мазки окрашивали в 4-5 % водном красителе Романовского-Гимза при рН 6,8 и изучали при помощи светооптической иммерсионной микроскопии, с подсчётом не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в центральных и периферических частях препарата, в соответствии с общепринятой методикой [10]. Подсчитанное в цитологических мазках число нейтрофилов, эозинофилов и клеток бронхиального эпителия (структурно целостных цилиндрических реснитчатых и бокаловидных) выражали в процентах от общего числа подсчитанных в мазках ИМ клеток.

Цитохимическое исследование активности МПО в нейтрофилах ИМ проводили с помощью метода Грэхема-Кнолля [11] с докраской мазков после обработки бензидином и перекисью водорода водным раствором азура-2. Изображения микропрепаратов переводили в цифровую форму с помощью видеокамеры ДСМ 510 с системой захвата изображения. Для цифровой обработки изображений клеток использовали компьютерные программы Image Tool и Optika Vision Pro (Италия), Mac Biophotonics Image S (США). На основании данных, полученных с помощью программы для микроденситометрии, по оптической плотности фермента в исследуемых клетках рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) МПО (в пикселях).

Исследование выполнено в соответствии с нормами Федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», международными этическими принципами проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и с разрешения локального комитета ДНЦ ФПД по биомедицинской этике. Функциональные тесты проводились в соответствии с существующими международными протоколами [12].

Статистический анализ проводили на основе стандартных методов вариационной статистики. Оценку соответствия признака закону нормального распределения проводили при помощи критериев Колмогорова-

Смирнова, Пирсона–Мизеса. Если выборка соответствовала нормальному типу распределения, использовали непарный критерий t (Стьюдента), при распределении отличном от нормального, применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Описательная статистика количественных признаков представлена с помощью среднего арифметического, стандартной ошибки среднего арифметического ( $M \pm m$ ), медианы и квартилей ( $Me[Q1; Q3]$ ). С целью определения степени связи между двумя случайными величинами использовали непарметрический корреляционный анализ по Спирмену (R). Для всех переменных принимали во внимание уровень значимости (p) менее 0,05.

### Результаты и обсуждение

Распределение больных в группы осуществлялось по результатам анализа изменения ОФВ1 ( $\Delta$ , %) после бронхопровокационных проб (табл. 1). В 1 группу (n=82) вошли больные БА с изолированной ГДП на холодовой стимул, 2-4 группы были представлены больными, у которых помимо холодовой ГДП была выявлена чрезмерная реакция дыхательных путей на другие бронхопровокационные стимулы. Во вторую группу (n=15) вошли лица с постнагрузочным бронхоспазмом ( $\Delta O_{FV1, дфн} = -18,1 \pm 2,3$  %); в 3 группу (n=32) – с ГДП на гипоосмолярный стимул ( $\Delta O_{FV1, идв} = -23,9 \pm 2,2$  %); в 4 группу (n=13) включены больные с ГДП на гиперосмолярный стимул ( $\Delta O_{FV1, игр} = -19,1 \pm 3,5$  %).

Исходные значения параметров вентиляционной функции легких (табл. 1), а также изменение ОФВ1 на короткодействующий бронхолитик ( $\Delta O_{FV1 бл}$ ) (рис.) не имели значимых межгрупповых различий. Следует отметить более выраженную реакцию бронхов на провокацию холодным воздухом (табл. 1) и более низкий уровень контроля над астмой (рис.) у лиц с сочетанной гиперреактивностью дыхательных путей.

Количественное содержание эозинофилов в мокроте больных 1 группы было достоверно более низким, а содержание неповрежденного бронхиального эпителия (БЭ) более высоким, чем у пациентов 2, 3 и 4 групп,

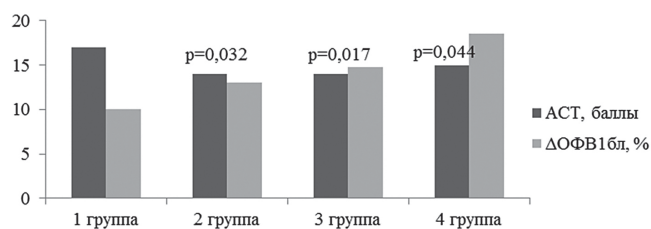


Рисунок. Медианные значения баллов вопросника Asthma Control Test и процентный прирост ОФВ1 после бронходилатационной пробы с салбутамолом.

Figure. Median values of the Asthma Control Test and percentage increase in FEV1 after bronchodilator test with salbutamol.

имевших сочетанную ГДП (табл. 2). Найдена тесная обратная корреляционная связь между уровнем эозинофилов и количеством неповрежденных эпителиоцитов ( $R_s = -0,52$ ;  $p < 0,001$ ).

Процентное содержание нейтрофилов во 2 и 4 группах относительно больных 1 группы имело тенденцию к снижению, а у больных 3 группы было достоверно ниже (табл. 2). Возможной причиной такого снижения могла служить интенсификация дегрануляции, деструкции и цитолиза при респираторном взрыве и функциональном напряжении клеток, приводящим к лизису мембран, некрозу и уменьшению содержания нейтрофилов. Повышение активности респираторного взрыва и цитолиз нейтрофилов у пациентов 3 группы сопровождалась увеличенной реакцией бронхов на холодовой и гипоосмолярный стимулы.

Содержание СЦК МПО у больных с сочетанной ГДП было выше, чем у больных с изолированной холодовой ГДП (табл. 2), что указывало на мобилизацию пероксидазной функции нейтрофилов. Более высокие значения СЦК МПО во 2 и 3 группах соответствовали более выраженной реакции бронхов на пробу ИГХВ (табл. 1). На совокупности больных с сочетанной ГДП найдена отрицательная корреляционная связь между активностью МПО в нейтрофилах и степенью выраженности реакции бронхов на пробу ИГХВ ( $R = -0,33$ ;  $p = 0,022$ ).

Таблица 1  
Вентиляционная функция легких, изменение ОФВ1 после пробы ИГХВ ( $M \pm m$ )

Table 1  
Lung function, and change in FEV1 after the IHCA test ( $M \pm m$ )

Показатели	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
ФЖЕЛ, % долж.	103,5 $\pm$ 1,8	109,3 $\pm$ 4,9	100,8 $\pm$ 2,5	106,5 $\pm$ 4,4
ОФВ1, % долж.	92,4 $\pm$ 1,8	96,2 $\pm$ 5,4	87,2 $\pm$ 2,8	91,9 $\pm$ 6,6
ОФВ1/ЖЕЛ, % долж.	89,4 $\pm$ 1,1	87,8 $\pm$ 2,6	85,3 $\pm$ 2,1	84,4 $\pm$ 3,9
$\Delta O_{FV1}$ игхв, %	-17,1 $\pm$ 0,9	-21,9 $\pm$ 2,4 p=0,047	-22,8 $\pm$ 1,8 p=0,003	-19,6 $\pm$ 2,5

Примечание: Здесь и далее p – значимость различий показателей 2, 3, 4 групп по сравнению с 1 группой.  $\Delta O_{FV1}$ игхв – изменение ОФВ1 в процентах после пробы ИГХВ.

Note: henceforward, p – significance of differences between values in groups 2, 3, 4 in comparison to group 1.  $\Delta FEV1_{IHCA}$  – the change in FEV1 after IHCA.

Таблица 2  
Содержание нейтрофилов, эозинофилов, бронхиального эпителия, активность миелопероксидазы нейтрофилов в мокроте больных БА ( $M \pm m$ ); ( $Me[Q1; Q3]$ )

Table 2  
The content of neutrophils, eosinophils, bronchial epithelium, neutrophil myeloperoxidase activity in the sputum of BA patients ( $M \pm m$ ); ( $Me[Q1; Q3]$ )

Показатели	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
Нейтрофилы, %	40,6 $\pm$ 2,2	37,1 $\pm$ 4,7	32,3 $\pm$ 3,1 p=0,036	36,3 $\pm$ 6,9
Эозинофилы, %	11,1 $\pm$ 1,2	20,4 $\pm$ 4,3 p=0,008	20,8 $\pm$ 2,5 p<0,001	26,1 $\pm$ 5,7 p<0,001
Бронхиальный эпителий, %	1,8[1,1; 9,4]	1,3[0,8; 2,8] p=0,037	1,6[1,1; 2,5] p=0,009	0,10[0,10; 0,54] p<0,001
МПО, пиксель	72,9 $\pm$ 4,8	111,3 $\pm$ 17,1 p=0,006	90,2 $\pm$ 7,1 p=0,047	126,0 $\pm$ 13,3 p<0,001

Анализ приведённых данных о содержании эозинофилов и нейтрофилов в индуцированной мокроте позволил констатировать смешанный паттерн воспаления у лиц 1 группы и преимущественно смешанный паттерн воспаления у больных 2 и 4 групп, так как по количеству нейтрофилов паттерны воспаления во 2 и 4 группах практически не отличались от паттерна 1 группы. Воспаление дыхательных путей пациентов 3 группы характеризовалось эозинофильным паттерном с выраженным нейтрофильным компонентом.

Доля эозинофилов в паттернах воспаления 2, 3 и 4 групп возрастала на фоне присоединения к холодовой ГДП других видов гиперреактивности, свидетельствуя о расширении спектра зависимых от эозинофилов иммунных реакций, регулирующих бронхоспазм. Депрессия эозинофильного пула в 1 группе, скорее всего, была связана с меньшей активностью эозинофилов и эскалацией или доминированием роли нейтрофилов в координации изолированной холодовой ГДП.

Взаимосвязь между нейтрофильным и эозинофильным сегментами воспаления, в том числе, воспаления при изолированной ГДП или сочетанной с другими видами гиперреактивности базируется на доказанной способности взаимного потенцирования: эозинофилы способны стимулировать нейтрофильное воспаление [13], нейтрофилы – эозинофильное [14]. Так, наряду с продукцией токсичных гранулярных белков, АФК, множества цитокинов и хемокинов (IL-2, IL-4, IL-5, IL-3, IL-10, GM-CSF, IL-13, TGFβ1, IL-6, CCL5/RANTES, CCL3/MIP-1α и других), эозинофилы экспрессируют нейтрофильный хемокин CXCL8/IL-8, тем самым стимулируя рекрутинг нейтрофилов в очаг воспаления [13]. У больных астмой эозинофилы в бронхоальвеолярной лаважной жидкости секретируют значительно более высокие уровни CXCL8/IL-8 по сравнению с уровнями контроля при инкубации *in vitro* [13].

Эозинофилы человека от atopических или гиперэозинофильных доноров не ассоциированы исключительно с Th2 иммунным ответом и могут синтезировать более 30 цитокинов с различным и часто противоположным иммунопотенцирующим потенциалом [15]. В дыхательных путях после бронхопровокации аллергеном эозинофилы усиленно генерируют IL-5, IL-13 и IFN-γ [16], представляющий собой маркер клеточного иммунитета. IFN-γ поляризует иммунный ответ по Th1 типу, повышает дифференцировку незрелых CD4+Th0 в CD4+Th1, супрессирует Th2 иммунные реакции в совокупности со стимуляцией процессинга антигенов и экспрессией поверхностных костимулирующих молекул на антигенпрезентирующих клетках [17]. IFN-γ обладает функцией активации нейтрофилов, играя ведущую роль в поддержании нейтрофильного и смешанного воспаления бронхов совместно с цитокином не Th2 типа IL-17, усиленно экспрессируемым при астме [18]. Как установлено, IL-17, высокая концентрация которого выявляется в мокроте пациентов с БА, секретируется не только Th17-клетками, но и эозинофилами, что демонстрирует причастность эозинофилов к ремоделированию бронхов, обусловленному активностью IL-17 [19].

Ремоделирование дыхательных путей берет начало в эпителиальной деструкции, наблюдающейся уже на самых ранних этапах течения БА, сопровождающейся эозинофильной инфильтрацией собственной пластинки слизистой оболочки, гиалинозом ретикулярной базальной мембраны, ангиогенезом [20]. Деструкция бронхиального эпителия прогрессирует по мере нарастания тяжести болезни [21] и, в условиях высокого содержания в воспалительном инфильтрате нейтрофилов при тяжелой астме, сопровождается атрофией эпителиальной выстилки [4], представленной одним слоем недифференцированных клеток, подвергающихся апоптозу [21]. Апоптоз эпителия у больных астмой потенцирован несостоятельностью репаративных процессов, что подтверждается обнаружением в культуре клеток эпителиальной выстилки бронхов маркера раннего апоптоза p85+, сопряженного с дефектом репарации и экспрессируемого большим количеством эпителиоцитов [22].

Со стороны эозинофилов десквамация, деструкция и цитоллиз бронхиального эпителия при астме вызываются воздействием крайне токсичных гранулярных белков (главного щелочного протеина MBP, ECP, эозинофильной пероксидазы EPO и полученного из эозинофилов нейротоксина EDN), цитокинов, хемокинов, факторов роста, метаболитов кислорода [23]. Связанная с АФК цитотоксичность эозинофилов опосредуется активацией оксидазы респираторного выброса – NADPH-оксидазы, многокомпонентной ферментной системы, катализирующей NADPH-зависимое восстановление кислорода до супероксида аниона [23,24]. У больных БА высвобождение супероксид-аниона из эозинофилов, дегранулирующих при респираторном взрыве, происходит более интенсивно, чем из нейтрофилов [24].

Исходя из вышеизложенного, тот факт, что наименьшему количеству эозинофилов, обнаруженному нами в бронхах больных с изолированной холодовой ГДП, соответствовало наибольшее число эпителиальных клеток нормального строения, может найти объяснение в минимизации деструкции эпителия, связанной с эозинофилами, что подтверждается полученной корреляцией. Вместе с тем, первостепенными источниками свободных радикалов, повреждающих эпителий бронхов, в смешанном паттерне воспаления выступают нейтрофилы. Генерация АФК и АФГ нейтрофилами вызывает свободно-радикальное повреждение крист митохондрий и разрушение эндоплазматического ретикула эпителия с последующей гибелью клеток [22]. Как предполагается, в этом случае сигналы апоптоза передаются в эпителий не по прямому пути, от лигирования рецептора смерти до активации каспазного каскада и гибели клеток, а по пути, опосредованному деэнергизацией эпителиоцитов [22]. Усиление апоптоза эпителия сочетается с низким уровнем экспрессии факторов антиоксидантной защиты, в частности, супероксиддисмутазы, следовательно, с уязвимостью бронхиальных эпителиоцитов к агрессивному действию оксидантов [20].

Помимо повреждения свободными радикалами, описан механизм развития эпителиальной деструкции, основанный на провоспалительном синергизме

бронхиального эпителия, нейтрофилов и NF-κB-зависимых цитокинов, индуцируемых IFN-γ и IL-17 и контролируемых Th1 иммунный ответ при астме. Активация сигнальных путей NF-κB в клетках эпителия синхронизируется с притоком нейтрофилов в очаг воспаления и участвует в формировании иммунного ответа, в силу чего занимает одно из центральных мест в патогенезе эпителиальной дисфункции и ремоделирования дыхательных путей при БА [25].

К репрезентативным молекулам, экспрессируемым нейтрофилами и способными активировать эозинофилы, относятся MMP-9, LTβ4, PAF и TNF-α [14]. У больных астмой регуляция эозинофильного воспаления нейтрофилами стимулируется IL-8 и осуществляется путем модификации миграции эозинофилов через базальную мембрану слизистой оболочки бронхов. В результате развиваются эозинофилия и ремоделирование дыхательных путей, усугубляющие тяжесть заболевания, о чем свидетельствует положительная корреляция между комбинированным увеличением содержания нейтрофилов и эозинофилов в ИМ и выраженностью клинических симптомов при тяжелой БА [14]. Подчеркивается, что усиление трансбазальной мембранной миграции эозинофилов контролируется комплексным взаимодействием нейтрофилов с IL-8, ассоциирующимся с патогенетическими элементами неэозинофильной астмы [26], сочетанием бронхиального нейтрофильного и системного воспаления [27], праймированием респираторного взрыва нейтрофилов и преактивацией респираторных реакций клеток [28].

Согласно данным P.G. Gibson et al. [26], высокие концентрации МПО в мокроте больных БА присущи как неэозинофильной, так и эозинофильной астме, между тем как уровень IL-8, связанный с мобилизацией нейтрофилов и маркирующий нейтрофильный сегмент воспаления, при неэозинофильном типе является значительно более высоким, чем при эозинофильном. По нашим данным, повышение активности МПО в дыхательных путях у лиц со смешанным паттерном бронхиального воспаления было обусловлено присоединением к холодовой ГДП бронхоконстрикторной реакции на другие провоцирующие стимулы и усилением ответа бронхов на воздействие холодного воздуха. Можно прийти к заключению, что эти две причины служат фактором, влияющим на пероксидазную функцию нейтрофилов и стимулирующим активность эозинофилов, способствующую эпителиальной деструкции. Связь между пулом эозинофилов и бронхиальным эпителием воспалительного паттерна отражается сочетанием большего количества эозинофилов с меньшим количеством неповрежденных, структурно целостных эпителиоцитов. Не исключено, что присоединение к холодовой ГДП реакции бронхов на другие стимулы, сопровождающееся повышением роли эозинофилов в регуляции бронхоспазма, приводит к поляризации координирующего бронхоспазматический синдром Th1/Th2 иммунного ответа по Th2 типу, что контролируется взаимодействием нейтрофилов и эозинофилов.

Независимый от профиля воспаления бронхов низкий контроль над БА может рассматриваться в качестве

свидетельства недостаточной противовоспалительной терапии, получаемой больными. В связи с этим актуален поиск более эффективных подходов к лечению больных со сложными видами ГДП – с помощью увеличения объёма или более длительного применения стабильной дозы комбинированного препарата, обеспечивающих аттенуацию бронхиального воспаления, улучшение лёгочной функции и достижение контролируемого течения болезни.

### Заключение

Активация пероксидазной функции нейтрофилов и стимуляция активности эозинофилов, приводящая к деструкции эпителия и уменьшению содержания эпителиоцитов нормального строения, связаны с большей выраженностью холодовой ГДП и присоединением реакции на другие физические стимулы. Отсутствие хорошего контроля над БА свидетельствует о недостаточной эффективности противовоспалительной терапии.

### Литература / References

1. Пирогов АВ, Колосов ВП, Перельман ЮМ, Приходько АГ, Зиновьев СВ, Гассан ДА, Мальцева ТА. Особенности воспалительных паттернов бронхов и клинико-функциональная характеристика тяжелой неконтролируемой астмы у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Пульмонология*. 2016; 26(6): 701–707. [Pirogov AV, Kolosov VP, Perelman JM, Prikhodko AG, Zinov'ev SV, Gassan DA, Mal'tseva TA. Airway inflammation patterns and clinical and functional features in patients with severe un-controlled asthma and cold-induced airway hyperresponsiveness. *Russian Pulmonology*. 2016;26(6):701-707. (In Russian)] DOI: 10.18093/086901892016266701707
2. Пирогов АВ, Наумов ДЕ, Гассан ДА, Афанасьева ЕЮ, Котова ОО, Шелудько ЕГ, Ушакова ЕВ, Приходько АГ, Перельман ЮМ. Клеточное воспаление и профиль цитокинов бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2020;(75):21–31. [Pirogov AV, Naumov DE, Gassan DA, Afanaseva EY, Kotova OO, Sheludko EG, Ushakova EV, Prikhodko AG, Perelman JM. Cellular inflammation and the profile of bronchial cytokines in patients with bronchial asthma with cold airway hyperresponsiveness. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2020;(75): 21-31. (In Russian)] DOI: 10.36604.1998-5029-2020-75-21-31
3. Wicks J, Haitchi HM, Holgate ST, Davies DE, Powell RM. Enhanced upregulation of smooth muscle related transcripts by TGFβ2 in asthmatic (myo) fibroblasts. *Thorax*. 2006;6(4):313–319. DOI: 10.1136 / thx.2005.050005
4. Геренг ЕА, Суходоло ИВ, Плешко РИ, Огородова ЛМ, Селиванова ПА, Дзюман АН. Цитоморфологический анализ ремоделирования бронхиальной стенки при различных типах бронхиальной астмы. *Клиническая медицина*. 2012;90(2):24–27. [Gereng EA, Sukhodolo IV, Pleshko RI, Ogorodova LM, Selivanova PA, Dzyuman AN. Cytomorphological analysis of remodeling of the bronchial wall in different types of bronchial asthma. *Clinical medicine*. 2012;90(2):24–27. (In Russian)]
5. Молдогазиева НТ, Мохосоев ИМ, Мельникова ТИ, Завадский СП, Кузьменко АН, Терентьев АА. Двойственная природа активных форм кислорода, азота и галогенов: их эндогенные источники, взаимопревращения и способы нейтрализации. *Успехи биологической химии*. 2020;(60):123–172. [Moldogazieva NT, Mokhosoev IM, Melnikova TI, Zavadsky SP, Kuzmenko AN, Terentiev AA. Dual nature of reactive oxygen, nitrogen and halogen species: their endogenous sources, interconversions and methods of neutralization. *Successes of biological chemistry*. 2020;(60):123–172. (In Russian)]
6. Колпакова АФ, Шарипов РН, Латышева ЕН, Колпаков ФА. Транскрипционный фактор NF-κB играет ключевую роль в регуляции генов, участвующих в воспалительных и иммунных реакциях. *Сибирское медицинское обозрение*.

2009;14(3):165–171. [Kolpakova AF, Sharipov RN, Latysheva AN, Kolpakov FA. Transcription factor NF- $\kappa$ B plays the key role in regulation of genes that take part in inflammation and immune reactions. *Siberian Medical Review*. 2009;14(3):165–171. (In Russian)]

7. Куликов ЕС, Огородова ЛМ, Фрейдин МБ, Деев ИА, Селиванова ПА, Федосенко СВ, Кириллова НА. Молекулярные механизмы тяжелой бронхиальной астмы. *Молекулярная медицина*. 2013;(2):24–32. [Kulikov ES, Ogorodova LM, Freidin MB, Deev IA, Selivanova PA, Fedosenko SV, Kirillova NA. Molecular mechanisms of severe asthma. *Molecular Medicine*. 2013;(2):24–32. (In Russian)]

8. Bystrom J, Kawa A, Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein - a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respiratory Research*. 2011;12(1):10. DOI: 10.1186/1465-9921-12-10

9. Barnes N. Effects of antileukotrienes in the treatment of asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2000; (161):73–76. DOI: 10.1164/ajrcm.161.supplement\_1.lta-15

10. Bakakos P, Schleich F, Alchanatis M, Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside. *Current Medicinal Chemistry*. 2011;18(10):1415–1422. DOI: 10.2174/092986711795328337

11. Хейхоу ФГДж, Кваглино Д. Гематологическая цитохимия. Пер. с англ. Под ред. Н.С. Кисляк; М.: Медицина, 1983. [Hauhoe FGJ, Quaglino D. Hematologic cytochemistry. Per. s angl. Pod red. N.S. Kislyak; M.: Meditsina; 1983. (In Russian)]

12. Sylvester KP, Clayton N, Cliff I, Hepple M, Kendrick A, Kirkby J, Miller M, Moore A, Rafferty GF, O'Reilly L, Shakespeare J, Smith L, Watts T, Bucknall M, Butterfield K. ARTP statement on pulmonary function testing 2020. *BMJ Open Respiratory Research*. 2020;7(1):e000575. DOI: 10.1136/bmjresp-2020-000575

13. Davoine F, Lacy P. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Frontiers in Immunology*. 2014;5:1–17. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00570

14. Kikuchi I, Kikuchi S, Kobayashi T, Hagiwara K, Sakamoto Y, Kanazawa M, Nagata M. Eosinophil trans-basement membrane migration induced by interleukin-8 and neutrophils. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2006;(34):760–765. DOI: 10.1165/rcmb.2005-0303OC

15. Spencer LA, Szela CT, Perez SAC, Kirchhoffer CL, Neves JS, Radke AL, Weller PF. Human eosinophils constitutively express multiple Th1, Th2, and immunoregulatory cytokines that are secreted rapidly and differentially. *Journal of Leukocyte Biology*. 2009;85(1):117–123. DOI: 10.1189/jlb.0108058

16. Liu L-Y, Mathur SK, Sedgwick JB, Jarjour NN, Busse WW, Kelly EAB. Human airway and peripheral blood eosinophils enhance Th1 and Th2 cytokine secretion. *Allergy*. 2006;61(5):589–597. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2006.01060.x

17. Луцкий АА, Жирков АА, Лобзин ДЮ, Рао М, Алексеева ЛА, Мейерер М, Лобзин ЮВ. Интерферон- $\gamma$ : биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа. *Журнал инфектологии*. 2015;7(4):10–22. [Lutskii AA, Zhirkov AA, Lobzin DY, Rao M, Alekseeva LA, Maeurer M, Lobzin YV. Interferon- $\gamma$ : biological function and application for study of cellular immune response. *Journal Infectology*. 2015;7(4):10–22. (In Russian)]. DOI: 10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22

18. Duvall MG, Krishnamoorthy N, Levy BD. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasts and maintained by defective resolution. *Allergy International*. 2019;68(2):143–149. DOI: 10.1016/j.alit.2018.11.006

19. Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Tahaa R, Pagé N, Olivenstein R, Elias J, Chakir J. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2001;108(3):430–438. DOI: 10.1067/mai.2001.117929

20. Конищева АЮ, Гервазиева ВБ, Лаврентьева ЕЕ. Особенности структуры и функции респираторного эпителия при бронхиальной астме. *Пульмонология*. 2012;22(5):85–91. [Konishcheva AY, Gervazieva VB, Lavrentyeva EE. Changes in structure and function of respiratory epithelium in bronchial asthma. *Russian Pulmonology*. 2012;(5):85–91 (In Russian)]. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-85-91

21. Луценко МТ. Морфофункциональная характеристика слизистой оболочки бронхов при бронхиальной астме. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2014;(53):57–62. [Lutsenko MT. Morphofunctional characteristic of bronchi mucosa at bronchial asthma. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2014;(53):57–62 (In Russian)].

22. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling. *Cellular and Molecular Immunology*. 2007;4(6):419–429.

23. Колобовникова ЮВ, Уразова ОИ, Новицкий ВВ, Литвинова ЛС, Наследникова ИО, Воронкова ОВ, Михеева КО. Эозинофил и его роль в патологии. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2011;(2):6–13. [Kolobovnikova YV, Urazova OI, Novitsky VV, Litvinova LS, Naslednikova IO, Voronkova OV, Mikheeva KO. Eosinophil and its role in pathology. *Immunopathology, allergology, infectology*. 2011;(2):6–13. (In Russian)]

24. Lacy P, Abdel-Latif D, Steward M, Musat-Marcu S, Paul Man SF, Moqbel R. Divergence of mechanisms regulating respiratory burst in blood and sputum eosinophils and neutrophils from atopic subjects. *Journal of Immunology*. 2003;170(5):2670–2679. DOI: 10.4049/jimmunol.170.5.2670

25. Pantano C, Ather JL, Alcorn JF, Poynter ME, Brown AL, Guala AS, Beuschel SL, Allen GB, Whittaker LA, Bevelander M, Irvin CG, Janssen-Heininger YM. Nuclear factor-kappa B activation in airway epithelium induces inflammation and hyperresponsiveness. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2008;177(9):959–969. DOI: 10.1164/rccm.200707-1096OC

26. Gibson PG, Simpson J, Salto N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. *Chest*. 2001;119(5):1329–1336. DOI: 10.1378/chest.119.5.1329

27. Wood LG, Baines KI, Fu J, Scott HA, Gibson PG. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. *Chest*. 2012;142(1):86–93. DOI: 10.1378/chest.11-1838

28. Sheppard FR, Kelher MR, Moore EE, McLaughlin NJ, Banerjee A, Silliman CC. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *Journal of Leukocyte Biology*. 2005;78(5):1025–1042. DOI: 10.1189/jlb.0804442

## Сведения об авторах

Пирогов Алексей Борисович, к.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории профилактики неспецифических заболеваний лёгких, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания; адрес: Российская Федерация, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; тел.: +7(4162)772801; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru, <http://orcid.com/0000-0001-5846-3276>

Приходько Анна Григорьевна, д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания; Российская Федерация, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; тел.: +7(962)2844390; e-mail: prih-anya@ya.ru, <http://orcid.com/0000-0003-2847-7380>

Перельман Юлий Михайлович, член-корр. РАН, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания; Российская Федерация, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; тел.: +7(962)2857017; e-mail: jperelman@mail.ru; <http://orcid.com/0000-0002-9411-7474>

## Author information

Aleksey B. Pirogov, Dr. Med. Sci., Associate Professor, Senior Scientist, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; Address: 22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, Russian Federation 675000; Phone: +7(4162)772801; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru, <http://orcid.com/0000-0001-5846-3276>

Anna G. Prikhodko, Dr. Med. Sci., Chief Scientist, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; Address: 22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, Russian Federation 675000; Phone: +7(962)2844390; e-mail: prih-anya@ya.ru, <http://orcid.com/0000-0003-2847-7380>

Juliy M. Perelman, Dr. Med. Sci., Corresponding Member of RAS, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; Address: 22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, Russian Federation 675000; Phone: +7(962)2857017; e-mail: jperelman@mail.ru, <http://orcid.com/0000-0002-9411-7474>

Дата поступления 29.07.2022

Дата рецензирования 08.10.2022

Принята к печати 03.11.2022

Received 29 July 2022

Revision Received 08 October 2022

Accepted 03 November 2022