

УДК 616.248:616.233-002(612.112.3+612.014.467)]612.216:616-001.18

DOI: 10.36604/1998-5029-2024-91-50-58

ИНТЕРЛЕЙКИН 8 И ФАГОЦИТЫ БРОНХОВ У БОЛЬНЫХ НЕАЛЛЕРГИЧЕСКОЙ АСТМОЙ С РАЗЛИЧНОЙ РЕАКЦИЕЙ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА ХОЛОДОВОЙ СТИМУЛ

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

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» 675000 г. Благовещенск, ул. Калинина 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Малоизвестна роль фагоцитов, находящихся под регулирующим влиянием интерлейкина 8 (IL-8), в формировании реакции бронхов на стимулы окружающей среды у больных бронхиальной астмой (БА). **Цель.** Изучить функциональную активность IL-8 и пула фагоцитарных клеток в воспалительном паттерне бронхов у больных неаллергической БА при ингаляционном воздействии холодного воздуха. **Материалы и методы.** У 129 больных легкой и среднетяжелой БА анализировали содержание IL-8 и клеточный состав мокроты до и после проведения бронхопровокационной пробы с изокпапнической гипервентиляцией холодным (-20°C) воздухом (ИГХВ). **Результаты.** По результатам инструментальной пробы ИГХВ с оценкой изменений ОФВ_1 ($\Delta, \%$) у 54 больных (1 группа) верифицирована холодовая гиперреактивность дыхательных путей (ХГДП), группа сравнения представлена пациентами БА (2 группа, $n=75$), не реагирующими на триггер ($\Delta\text{ОФВ}_1 = -18,9 \pm 1,2$ и $-3,3 \pm 0,4\%$; $p < 0,0001$, соответственно). Содержание нейтрофилов в мокроте составляло в группах перед провокацией $41,1 \pm 2,2$ и $34,5 \pm 2,2\%$ ($p < 0,05$), макрофагов – $36,2 \pm 2,7$ и $43,1 \pm 2,5\%$ ($p > 0,05$), соответственно. В ответ на пробу ИГХВ в 1 группе количество нейтрофилов увеличивалось до $48,2 \pm 2,0\%$ ($p < 0,05$), макрофагов снижалось до $28,7 \pm 2,1\%$ ($p < 0,01$), уровень IL-8 возрастал с 12838 ± 2328 до 17412 ± 2980 пг/мл ($p < 0,05$). Во 2 группе концентрация IL-8 составила до пробы ИГХВ 14639 ± 2691 пг/мл, после пробы 10545 ± 1746 пг/мл ($p > 0,05$); число нейтрофилов после пробы $40,0 \pm 2,3\%$ ($p > 0,05$); макрофагов – $35,8 \pm 2,0\%$ ($p < 0,01$). **Заключение.** У больных БА с ХГДП в ответ на действие холодового триггера в воспалительном паттерне бронхов происходит усиление активности IL-8 и более выраженные изменения в содержании фагоцитов, мобилизованных при участии данного цитокина.

Ключевые слова: неаллергическая бронхиальная астма, интерлейкин 8, фагоцитарные клетки бронхов, смешанный паттерн бронхиального воспаления, Th1 иммунный ответ, холодовая гиперреактивность дыхательных путей.

INTERLEUKIN 8 AND BRONCHIAL PHAGOCYTES IN PATIENTS WITH NON-ALLERGIC ASTHMA AND DIVERSE RESPIRATORY RESPONSES TO COLD STIMULUS

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

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

SUMMARY. Introduction. The role of phagocytes, regulated by interleukin 8 (IL-8), in the formation of the bronchial response to environmental stimuli in patients with asthma is not well understood. **Aim.** To study the functional activity of IL-8 and the pool of phagocytic cells in the inflammatory pattern of the bronchi in patients with non-allergic asthma during inhalation exposure to cold air. **Materials and methods.** In 129 patients with mild to moderate asthma, the content of IL-

Контактная информация

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Correspondence should be addressed to

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Senior Staff Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Для цитирования:

Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Интерлейкин 8 и фагоциты бронхов у больных неаллергической астмой с различной реакцией дыхательных путей на холодовый стимул // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2024. Вып.91. С.50–58. DOI: 10.36604/1998-5029-2024-91-50-58

For citation:

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M. Interleukin 8 and bronchial phagocytes in patients with non-allergic asthma and diverse respiratory responses to cold stimulus. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniia* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2024; (91):50–58 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2024-91-50-58

8 and the cellular composition of sputum before and after the bronchoprovocation test with isocapnic hyperventilation with cold air (-20°C) (IHCA) were analyzed. **Results.** Based on the results of the IHCA by the assessment of changes in FEV_1 ($\Delta, \%$), 54 patients (1st group) were verified with cold airway hyperresponsiveness (CAHR), the comparison group consisted of asthma patients (2nd group, $n=75$) who did not respond to the trigger ($\Delta\text{FEV}_1 = -18.9 \pm 1.2$ and $-3.3 \pm 0.4\%$; $p < 0.0001$, respectively). The content of neutrophils in sputum before provocation was $41.1 \pm 2.2\%$ and $34.5 \pm 2.2\%$ ($p < 0.05$), macrophages – $36.2 \pm 2.7\%$ and $43.1 \pm 2.5\%$ ($p > 0.05$), respectively. In response to the IHCA in the 1st group, the number of neutrophils increased to $48.2 \pm 2.0\%$ ($p < 0.05$), macrophages decreased to $28.7 \pm 2.1\%$ ($p < 0.01$), and the level of IL-8 increased from 12838 ± 2328 to 17412 ± 2980 pg/mL ($p < 0.05$). In the 2nd group, the concentration of IL-8 before the IHCA was 14639 ± 2691 pg/mL, after the test 10545 ± 1746 pg/mL ($p > 0.05$); the number of neutrophils after the test $40.0 \pm 2.3\%$ ($p > 0.05$); macrophages – $35.8 \pm 2.0\%$ ($p < 0.01$). **Conclusion.** In asthma patients with CAHR, the inflammatory pattern of the bronchi in response to the cold trigger shows enhanced IL-8 activity and more pronounced changes in the content of phagocytes, mobilized with the involvement of this cytokine.

Key words: non-allergic bronchial asthma, interleukin 8, bronchial phagocytic cells, mixed pattern of bronchial inflammation, Th1 immune response, cold airway hyperresponsiveness.

Интерлейкин 8 (IL-8/CXCL8) представляет собой мощный провоспалительный цитокин, взаимодействующий с рецепторами IL-8 α (IL-8RA, CXCR1), IL-8 β (IL-8RB, CXCR2) и стимулирующий активацию, миграцию нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов из периферической крови в очаг воспаления [1, 2]. Он играет решающую роль в инициации воспалительного ответа на патохимической стадии развития бронхиальной астмы (БА), ассоциируясь с патогенетическими элементами болезни [1] и полиморфизмами гена *IL-8RA*. Ранее было показано увеличение частоты встречаемости аллелей 31R, S276T и 335C гена *IL-8RA* у лиц с БА и ХОБЛ относительно здоровых [1, 3].

Перемещение нейтрофилов в дыхательные пути под контролем IL-8 с одновременной индукцией респираторного взрыва и синтезом свободных радикалов в мигрирующих клетках приводит к формированию нейтрофильного профиля бронхиального воспаления. Это сопровождается повышенной экспрессией мембранных клеточных рецепторов, связывающих IL-8 с развитием системного воспаления при тяжелом течении БА, частыми обострениями, невосприимчивостью к ингаляционным глюкокортикостероидам [4, 5].

Интеграция IL-8 с IL-1, гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF), фактором некроза опухоли альфа (TNF α) и другими провоспалительными медиаторами составляет цитокиновый фон, активирующий функции нейтрофилов [4, 5], в результате чего синтезируются и продуцируются нейтрофилины (GM-CSF, TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8), участвующие в кооперативном взаимодействии фагоцитов и действующие паракринно на макрофаги, аутокринно – на нейтрофилы [6]. Поскольку ведущая роль продуцентов IL-8 в иммунной системе отводится макрофагам, доказано непосредственное участие IL-8 в аутокринной регуляции функциональной активности этих клеток [2].

В 2010 году Номенклатурным комитетом Международного союза иммунологических обществ среди мононуклеарных фагоцитов – моноцитов и макрофагов – было выделено три популяции: классические (CD14⁺CD16⁻), неклассические (CD14⁺⁺CD16⁺) и переходные (CD14⁺CD16⁺⁺), с объединением в некоторых

случаях неклассической и переходной в одну популяцию (CD14⁺CD16⁺) [2, 7]. Аутокринная стимуляция интерлейкином 8 воспалительной активности макрофагов (M), заключающаяся в поддержании классической CD14⁺CD16⁻ популяции макрофагальных предшественников и поляризации клеток в классический M1-фенотип [2], является одним из патогенетических звеньев неаллергической астмы. В иммунном ответе больных БА M1 макрофаги эффективно активируют клетки Т-хелперы первого типа (Th1), секретируя большой спектр цитокинов, а также NO и активные формы кислорода (reactive oxygen species (ROS)) [8–13].

Исходя из предпосылок об актуальной роли в развитии воспаления дыхательных путей при неаллергической астме Th1-иммунных реакций, детерминированных взаимодействием нейтрофилов и M1 макрофагов, определенный интерес представляет изучение морфофункционального статуса фагоцитов, находящихся под регулирующим влиянием IL-8, у астматиков, по разному реагирующих на триггеры внешней среды. Целью настоящей работы явилась оценка функциональной активности IL-8 и пула фагоцитарных клеток в воспалительном паттерне бронхов больных неаллергической БА с разными типами реакции дыхательных путей на холодовой стимул.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось среди 129 больных с диагнозом БА неаллергического фенотипа, легкой и средней тяжести формы (GINA, 2023) [14]. Критерии включения: подтвержденный диагноз БА, стандартная базисная терапия, объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) при спирометрии более 75% должной величины, отсутствие документально подтвержденной аллергической реакции на холод, информированное согласие пациента на проведение клинико-инструментальных исследований. Критерии исключения: тяжелое течение БА, ОФВ₁ < 75 % должной величины, наличие холодовой аллергии при накожной пробе с кубиком льда (методика Дугласа), прием системных глюкокортикостероидов, сопутствующие заболевания органов дыхания (пневмония,

фиброзные заболевания легких, обострение хронического бронхита, хроническая обструктивная болезнь легких, острые заболевания верхних дыхательных

путей и т.д.), клинически значимые сопутствующие заболевания других органов и систем, беременность. Дизайн работы представлен в таблице 1.

Таблица 1

Дизайн клинического исследования

Дни	Последовательность выполнения тестов
1 день	<ul style="list-style-type: none"> - объективизация клинических симптомов БА; - оценка контроля заболевания (баллы) по вопроснику Asthma Control Test (ACT, Quality Metric Inc., 2002); - спирометрия (Easy on-PC nnd Medizintechnik AG, Швейцария) с анализом параметров ОФВ₁ ЖЕЛ, ОФВ₁, СОС₂₅₋₇₅ (% должн.); - бронходилатационная проба с β₂-агонистом короткого действия (сальбутамол, 400 мкг) с анализом изменения ОФВ₁ (ΔОФВ_{1β}, %); - сбор индуцированной мокроты [15].
2 день	<ul style="list-style-type: none"> - исходная спирометрия (Easy on-PC nnd Medizintechnik AG, Швейцария); - бронхопровокационная проба изокапнической гипервентиляции холодным (-20°C, 3 мин.) воздухом (ИГХВ) [16]; - спирометрия после пробы ИГХВ; - сбор спонтанно продуцируемой мокроты.

Бронхиальную реакцию после пробы ИГХВ регистрировали на 1 и 5 минутах с анализом изменения ОФВ₁ (ΔОФВ₁, %). Синдром холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП) считали верифицированным при снижении ОФВ₁ на 10% и более от исходной величины [16].

Сбор индуцированной мокроты проводили по стандартной методике под контролем ОФВ₁ непосредственно после ингаляции сальбутамола (400 мкг) индукцией 3%, 4% и 5% растворами хлорида натрия по 7 минут каждая. Ингаляцию солевого раствора прекращали после получения удовлетворительного образца мокроты либо падения ОФВ₁ на 10% от исходного значения. Сбор спонтанно продуцируемой мокроты осуществляли через 5 минут после пробы ИГХВ. Анализ образцов мокроты проводили не позднее 2 часов от сбора. Оценивали цитоз, регистрируя число клеток в 1 мкл мокроты. Мазки мокроты подготавливали стандартным способом, высушивали в термостате ТМ-2 (5-10 минут, 37°C), фиксировали в парах 40% раствора формалина (10 минут), окрашивали в 4-5% водном красителе Романовского-Гимза (рН 6,8). Для микроскопии использовали светооптический иммерсионный микроскоп, оценивали не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в центральных и периферических областях препарата, выражая в процентах от общего числа клеточных элементов [15]. Концентрацию цитокина IL-8 (пг/мл) в мокроте определяли методом мультиплексного анализа с использованием наборов LEGENDplex HU Essential Immune Response Panel (BioLegend, США) на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (BD, США) согласно протоколу производителя.

Статистический анализ полученного материала проводили на основе стандартных методов вариацион-

ной статистики. Для определения достоверности различий использовали парный и непарный критерий t (Стьюдента), в случаях негауссовых распределений - непараметрические критерии Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни. Количественные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего значения, а также медианы, нижнего, верхнего квартилей Me [Q1; Q3]. С целью определения степени связи между случайными величинами использовали классический корреляционный и регрессионный анализ. В качестве критического уровня значимости (p) принимали значение менее 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Включенные в исследование больные удовлетворительно перенесли бронхопровокационную нагрузку холодным воздухом и солевыми растворами. По результатам инструментальной пробы ИГХВ у 54 больных (1 группа) верифицирована холодовая гиперреактивность дыхательных путей, группа сравнения была представлена пациентами с БА (2 группа, n=75), не реагировавшими на триггер: ΔОФВ₁ = -18,9±1,2 и -3,3±0,4%, соответственно (p<0,0001). Больные обеих групп были сопоставимы по контрольным точкам – физиологическим параметрам, по тяжести и уровню контроля над заболеванием, исходным показателям функции внешнего дыхания (табл. 2), а также реакции бронхов (ΔОФВ_{1β}) на введение аэрозоля β₂-агониста короткого действия, выполненного перед сбором индуцированной мокроты (7[3;17] и 6[3;12]%, соответственно, p>0,05). Медианные значения для максимального изменения ОФВ₁ (Δ,%) после последовательной ингаляции 3, 4 и 5%-х растворов NaCl составили для больных с ХГДП -1,3[-5;2,3]%, для группы сравнения -0,6[-2,5;3,0] (p<0,05).

Таблица 2

Возраст, АСТ, функция внешнего дыхания у больных БА

	Возраст, лет	АСТ, баллы	ОФВ ₁ , % долж.	ОФВ ₁ /ЖЕЛ %	СОС ₂₅₋₇₅ , % долж.
1 группа	37,0±1,5	16,6±0,6	92,8±1,7	73,7±0,9	69,8±3,0
2 группа	39,8±1,2	18,8±0,4	95,1±1,7	74,6±0,8	74,6±2,7
Значимость	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Примечание: здесь и далее: p – значимость межгрупповых различий показателей.

То обстоятельство, что в цитограммах мокроты насчитывалось >2% эозинофилов и >40% нейтрофилов, служило свидетельством формирования у больных

смешанного воспалительного паттерна бронхов [17], который особенно наглядно проявлялся после ингаляционного воздействия холодного воздуха (табл. 3).

Таблица 3

Цитоз и клеточный состав мокроты у больных БА исходно и после пробы ИГХВ

	Цитоз, кл/1 мкл	Нейтрофилы, %	Макрофаги, %	Эозинофилы, %	Эпителиоциты, %
1 группа	<u>2,1±0,19</u> 3,1±0,35 p*<0,01	<u>41,1±2,2</u> 48,2±2,0 p*<0,05	<u>36,2±2,7</u> 28,7±2,1 p*<0,01	<u>14,7±1,6</u> 14,6±1,8 p*>0,05	<u>4,36±0,57</u> 2,53±0,32 p*<0,01
2 группа	<u>2,53±0,17</u> 2,77±0,18	<u>34,5±2,2</u> 40,0±2,3	<u>43,1±2,5</u> 35,8±2,0 p*<0,01	<u>13,5±1,3</u> 17,7±1,5 p*<0,01;	<u>3,43±0,56</u> 2,98±0,57
Значимость	<u>p>0,05</u> p>0,05	<u>p<0,05</u> p>0,05	<u>p>0,05</u> p>0,05	<u>p>0,05</u> p>0,05	<u>p>0,05</u> p>0,05

Примечание: В числителе представлены исходные значения показателя, в знаменателе – после пробы ИГХВ; (p*) – здесь и в таблице 4: значимость различий между исходно зарегистрированным параметром и полученным после пробы ИГХВ (парный метод).

Анализ данных показал, что у больных 1 группы ответ на пробу ИГХВ на фоне усиления цитоза мокроты наблюдалось достоверное увеличение процентного содержания нейтрофилов и снижение макрофагов, а также уменьшение числа структурно целостных эпителиальных клеток как следствие воспалительного повреждения, деструкции и цитолиза паренхимы бронхов (табл. 3). Такое же снижение содержания макрофагов в мокроте после ИГХВ отмечалось и во 2 группе. Попутно следует отметить, что у последних после бронхопровокации также увеличивалось количество нейтрофилов, достигая 40% и более клеточного состава мокроты, что свидетельствовало о возможном переходе эозинофильного в смешанный паттерн воспаления (табл. 3). В обеих группах прослеживалась тесная связь между зарегистрированным в начале исследования содержанием нейтрофилов и макрофагов в мокроте ($r=-0,85$, $p<0,001$; $r=-0,76$, $p<0,001$, соответственно). Для того чтобы описать модель зависимости между реакцией бронхов на холодовой триггер у лиц с ХГДП и вкладом каждой из переменных – предикторов, характеризующих бронхиальное воспаление, был использован множественный регрессионный анализ. Построено уравнение следующего вида:

$$\Delta\text{ОФВ}_1 = -27 + 1,5 \times \text{цитоз} + 0,043 \times \text{нейтрофилы} + 0,12 \times \text{макрофаги},$$

регрессия значима с вероятностью 96%.

Нейтрофилия воспалительного паттерна бронхов, наблюдаемая в обеих группах, является патогномичным признаком неаллергического фенотипа БА и не-T2-эндотипа, или Th1- или Th1/Th17-эндотипа [18]. Этот фенотип в научной литературе рассматривают в сопряжении с персистенцией хронического воспаления дыхательных путей, обусловленного повреждением тканей вирусными либо бактериальными патогенами [19]. Напряженность противомикробного иммунитета, связанная с увеличением выживаемости нейтрофилов в бронхах, активацией нейтрофильного компонента воспаления при снижении активности его атопического компонента, более характерна для Th1- или Th1/Th17-эндотипов болезни. Указанные факторы служат причиной стероидорезистентности [18] и сочетаются со значительным повышением у больных неаллергической БА продукции IL-8 лейкоцитами периферической крови [19].

Снижение содержания макрофагов после холодовой бронхопровокации у лиц с ХГДП могло быть связано с активацией макрофагального респираторного

взрыва, который в процессе бронхоспазма сопровождается лабилизацией лизосом, интенсивной дегрануляцией, потерей лизосомных гранул при высвобождении во внеклеточную среду токсических метаболитов, ROS и других продуктов оксидативного стресса. В конечном итоге это вызывает деструкцию, фрагментацию и лизис цитоплазмы, а затем и ядра клеток, завершаясь

цитоллизом, приводя к уменьшению содержания макрофагов в воспалительном инфильтрате бронхов. Скорее всего, что у больных 1 группы IL-8 был причастен к активации респираторного взрыва в макрофагах, поскольку его концентрация в ответ на пробу ИГХВ значительно возрастала, в отличие от полученного значения у больных 2 группы (табл. 4).

Таблица 4

Концентрация IL-8 в мокроте больных БА исходно и после пробы ИГХВ

	IL-8 (пг/мл) исходно	IL-8 (пг/мл) после пробы ИГХВ	Значимость (парный метод)
1 группа	12838±2328	17412±2980	p*<0,05
2 группа	14639±2691	10545±1746	p*>0,05
Значимость	p>0,05	p>0,05	

Следует заметить, что процессы респираторного взрыва и фагоцитоза, продукция ROS, галогенов (HOCl) и азота (NO), секрция медиаторов воспаления и провоспалительных цитокинов принадлежат M1 макрофагам, поляризация которых контролируется IL-8. Следовательно, вполне вероятным представляется доминирование в дыхательных путях больных с ХГДП макрофагов M1 фенотипа, секреторная активность которых стимулировалась IL-8 с возможным ростом их числа после индукции бронхоспазма. Ранее была показана высокая подверженность макрофагов к дифференцировке в классически и альтернативно активированные формы (M1 и M2) благодаря цитокиновому/хемокиновому микроокружению. Способность генерироваться в M1 макрофаги происходит под воздействием Th1 цитокинов и микробных продуктов [2]. Помимо IL-8, мощными индукторами поляризации клеток в фенотип M1 выступают липополисахарид (LPS), интерферон гамма (IFN-γ), GM-CSF, IL-17, IL-32 [10,13].

Согласно данным, полученным *in vitro*, IL-8, заметно уменьшая содержание CD16⁺ (FcγRIII) клеток среди LPS-активированных макрофагов, увеличивает количество макрофагов, экспрессирующих рецептор к IFN-γ (CD119) и снижает количество клеток, несущих рецептор к IL-4 (CD124) [2]. IFN-γ, поляризующий иммунный ответ по Th1 типу и активацию M1 макрофагов [8–12], индуцируя NADPH-зависимую фагоцитарную оксидазу, праймирует респираторный взрыв в макрофагах, стимулирует синтез NO, снижает запасы триптофана и увеличивает продукцию ферментов лизосом [20]. Таким образом, опосредованно, через активацию IFN-γ, IL-8 тоже принимает участие в прайминге респираторного взрыва макрофагов, модулирует активность нейтрофильной NADPH-оксидазы, что влечёт за собой респираторный взрыв в нейтрофилах [21, 22].

С регуляторным влиянием IL-8, направленным на мобилизацию нейтрофильного пула и функциональную активацию нейтрофилов, связано увеличение количества нейтрофилов в ответ на пробу ИГХВ у лиц с

ХГДП при инертности пула эозинофилов, процентное содержание которых в гранулоцитарном сегменте смешанного паттерна бронхиального воспаления в результате бронхоспазма существенно не изменялось. Кроме того, IL-8 мог выступать в качестве объединяющей движущей силы эскалации воспаления дыхательных путей, лежащей в основе общности клинических и функциональных проявлений астмы в обеих группах больных. Изменение содержания интерстициальных макрофагов бронхов после пробы ИГХВ, вероятнее всего, было связано со стимулирующим влиянием IL-8 на макрофаги и нейтрофилы, с индукцией макрофагов к усиленному синтезу IL-6, IL-1β [2] и развитием поляризации иммунного ответа по Th1/Th17- типу.

Известно, что продукция IL-8 иммунокомпетентными клетками ассоциируется с активацией канонического транскрипционного ядерного фактора kβ (NF-kβ) [2], участвующего в развитии хронического воспаления дыхательных путей, в частности при БА. Контролируя экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточной пролиферации, NF-kβ регулирует экспрессию генов, участвующих в кодировании провоспалительных цитокинов и хемокинов (IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12, TNF-α, GM-CSF, макрофагального белка воспаления 1α (macrophage inflammatory proteins (MIP) 1α), RANTES и эотоксина), белков острой фазы, молекул межклеточной адгезии, индуцибельных эффекторов ферментов (индуцибельной NO-синтазы (iNOS), циклооксигеназы 2 типа (COX-2)) [23]. В свою очередь известно, что сигнальные пути IL-1β и IL-6 играют ключевую роль в экспрессии IL-17 и регуляции Th1/Th17 иммунного ответа при неаллергической форме астмы.

Принято считать, что потребность в IL-6 для дифференцировки CD4+Th0 в субпопуляцию CD4+T-хелперов 17 (Th17) дополнительно усиливается IL-1β [24], или наоборот, ведущее значение в поляризации Th17 принадлежит IL-1β, а IL-6 выступает в качестве усилителя процесса [25]. С высоким содержанием Th17-клеток в периферической крови, IL-17A и IL-17F в

мокроте, жидкости бронхоальвеолярного лаважа, в бронхобиоптатах (в эпителиоцитах, субэпителиальном слое слизистой оболочки и лейомиоцитах), в сочетании с нейтрофилией легочного экссудата, нейтрофильной инфильтрацией бронхов и стероидной резистентностью связывают утяжеление клинического течения БА с переходом в среднетяжёлые и тяжёлые формы [24, 26–28]. При тяжёлом неконтролируемом течении неатопической астмы прогрессирует Th1/Th17 иммунный ответ с увеличением продукции провоспалительных цитокинов, модифицирующих структуру респираторного тракта, потенцирующих гиперреактивность дыхательных путей, обструкцию и ремоделирование бронхов [4, 5, 28, 29].

Причиной отсутствия хорошего контроля над болезнью у обследованных больных, скорее всего, послужила неполнота коррекции в рамках выбранного объёма получаемой противовоспалительной терапии Th1 иммунного ответа, индуцированного IL-8, и, возможно, ответа Th1/Th17, ассоциированного с экспрессируемыми IL-1 β и IL-6 воспалительными реакциями на фоне мобилизации моно- и полинуклеарных фагоцитов при изначально торпидном к действию ингаляционных глюкокортикостероидов клинко-патофизиологическом варианте БА. Неконтролируемое течение астмы с частыми обострениями, несомненно, связано с активностью IL-8, известного как маркера продолжительности приступного периода. Клиническими исследованиями показано, что длительные и тяжёлые обострения БА сопровождаются значительным ростом концентрации плазменного IL-8 [4, 5].

Заключение

Таким образом, при всей тождественности клинико-функциональных параметров, отличия в морфо-функциональном профиле воспаления бронхов у больных БА, обусловленные активацией регулирующего влияния IL-8 в ответ на действие холодого стимула, а также увеличение цитоза позволяют прийти к выводу о превалировании провоспалительных эффектов IL-8 и спектра Th1 цитокинов у больных с холодиндуцированным бронхоспазмом. Клиническая значимость фенотипа ХГДП у астматиков, проживающих в условиях резко-континентального климата Сибири и Дальнего Востока России, высока. Суровые погодные условия предполагают уязвимость органов дыхания к воздействию инфекционных агентов, персистенции очагов хронической инфекции, инициации и поддержанию оксидативного стресса в бронхах с активацией механизмов, формирующих неаллергический вариант БА.

Конфликт интересов

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

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Stemmler S., Arinir U., Klein W., Rohde G., Hoffjan S., Wirkus N., Reinitz-Rademacher K., Bufe A., Schultze-Werninghaus G., Epplen J.T. Association of interleukin-8 receptor α polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease and asthma // *Genes Immun.* 2005. Vol.6, Iss.3. P.225–230. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364181>
2. Меняйло М.Е., Малащенко В.В., Шмаров В.А., Газатова Н.Д., Мелашенко О.Б., Гончаров А.Г., Селедцова Г.В., Селедцов В.И. Интерлейкин-8 способен поддерживать провоспалительную активность моноцитов (макрофагов) человека // *Гены и Клетки.* 2018. Т.13, №1. С.65–69. EDN: YNQDXN. <https://doi.org/10.23868/201805007>
3. Puthothu B., Krueger M., Heinze J., Forster J., Heinzmann A. Impact of IL8 and IL8-receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections // *Clin. Mol. Allergy.* 2006. Vol.4. Article number: 2. <https://doi.org/10.1186/1476-7961-4-2>
4. Habib N., Pasha M.A., Tang D.D. Current understanding of asthma pathogenesis and biomarkers // *Cells.* 2022. Vol.11, Iss.17. Article number: 2764. <https://doi.org/10.3390/cells11172764>
5. Yamasaki A., Okazaki R., Harada T. Neutrophils and asthma // *Diagnostics (Basel).* 2022. Vol.12, Iss.5. Article number: 1175. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12051175>
6. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами // *Иммунология.* 2000. №5. С.11–17.
7. Williams H., Mack C., Baraz R., Marimuthu R., Naralashetty S., Li S., Medbury H. Monocyte differentiation and heterogeneity: Intersubset and interindividual differences // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol.24, Iss.10. Article number: 8757. <https://doi.org/10.3390/ijms24108757>
8. Лямина С.В., Шимшелашвили Ш.Л., Калиш С.В., Малышева Е.В., Ларионов Н.П., Малышев И.Ю. Изменение фенотипа и фенотипической пластичности альвеолярных макрофагов при заболеваниях легких, имеющих воспалительный компонент // *Пульмонология.* 2012. №6. С.83–89. EDN: PYRHKB. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-6-83-89>
9. Сарбаева Н.Н., Пономарева Ю.В., Милякова М.Н. Макрофаги. Разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами // *Гены и Клетки.* 2016. Т.11, №1. С.9–17. EDN: WCLIZL.

10. Jiang Z., Zhu L. Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma // *J. Asthma Allergy*. 2016. Vol.9. P.101–107. <https://doi.org/10.2147/JAA.S104508>
11. Никонova A.A., Хаитов M.P., Хаитов P.M. Характеристика и роль различных популяций макрофагов в патогенезе острых и хронических заболеваний легких // *Медицинская иммунология*. 2017. Т.19, №6. С.657–672. EDN: ZTSXDL. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-6-657-672>
12. Arora S., Deva K., Agarwal B., Dasc P., Ali Syed M. Macrophages: Their role, activation and polarization in pulmonary diseases // *Immunobiology*. 2018. Vol.223, Iss.4-5. P.383–396. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2017.11.001>
13. Федоров A.A., Ермак H.A., Геращенко T.C., Топольницкий E.B., Шефер H.A., Родионов E.O., Стахеева M.H. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции // *Сибирский онкологический журнал* // 2022. Т.21, №4. С.124–136. EDN: LYBKUG. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136>
14. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2023 update). URL: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2023/07/GINA-2023-Full-report-23_07_06-WMS.pdf
15. Djukanovic R., Sterk P.J., Fahy J.V., Hargreave F.E. Standardised methodology of sputum induction and processing // *Eur. Respir. J.* 2002. Iss.37. P.1s–2s. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00000102>
16. Приходько A.Г., Перельман Ю.М., Колосов B.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука; 2011. 204 с. EDN: POBRZA. ISBN: 978-5-8044-1220-4
17. Hastie A.T., Moore W.C., Meyers D.A., Vestal P.L., Li H., Peters S.P., Bleecker E.R. Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010. Vol.125, Iss.5. P.1028–1036. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.008>
18. Терехов Д.В. Тяжелая неаллергическая бронхиальная астма: характеристика фенотипа и особенности лечения // *Астма и аллергия*. 2019. №3. С.3–7. EDN: DJDDHE.
19. Трушина E.Ю., Костина E.M., Баранова H.И., Типикин B.A. Роль цитокинов как молекулярных маркеров воспаления при неаллергической бронхиальной астме // *Современные проблемы науки и образования*. 2018. №4. С.179. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27799>
20. Schroder K., Hertzog P.J., Ravasi T., Hume D.A. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions // *J. Leukoc. Biol.* 2004. Vol.75, Iss.2. P.163–189. <https://doi.org/10.1189/jlb.0603252>
21. Gougerot-Pocidallo M.A., Benna J., Elbim C., Chollet-Martin S., Dang M.C. Regulation of human neutrophil oxidative burst by pro- and anti-inflammatory cytokines // *J. Soc. Biol.* 2002. Vol.196, Iss.1. P.37–46.
22. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., McLaughlin N.J.D., Banerjee A., Silliman C.C. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation // *J. Leukoc. Biol.* 2005. Vol.78, №5. P.1025–1042. <https://doi.org/10.1189/jlb.0804442>
23. Колпакова A.Ф., Шарипов P.H., Латышева E.H., Колпаков Ф.А. Транскрипционный фактор NF-kB играет ключевую роль в регуляции генов, участвующих в воспалительных и иммунных реакциях // *Сибирское медицинское обозрение*. 2009. №3(57). С.7–12. EDN: KOHDYL
24. Singh P., Hasan S., Sharma S., Nagra S., Yamaguchi D.T., Wong D.T.W., Hahn B.H., Hossain A. Th17 cells in inflammation and autoimmunity // *Autoimmun. Rev.* 2014. Vol.13, Iss.12. P.1174–1181. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.08.019>
25. Acosta-Rodriguez E.V., Napolitani G., Lanzavecchia A., Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells // *Nat. Immunol.* 2007. Vol.8, Iss.9. P.942–949. <https://doi.org/10.1038/ni1496>
26. Al-Ramli W., Pre'fontaine D., Chouiali F., Martin J. G., Olivenstein R., Lemie're C., Hamid Q. T(H)17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009. Vol.123, Iss.5. P.1185–1187. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.02.024>
27. Lindén A., Dahlén B. Interleukin-17 cytokine signalling in patients with asthma // *Eur. Respir. J.* 2014. Vol.44, Iss.5. P.1339–1331. <https://doi.org/10.1183/09031936.00002314>
28. Duvall M.G., Krishnamoorthy N., Levy B.D. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasm and maintained by defective resolution // *Allergol. Int.* 2019. Vol.68, Iss.2. P.143–149. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2018.11.006>
29. Esteban-Gorgojo I., Antolín-Amérigo D., Domínguez-Ortega J., Quirce S. Non-eosinophilic asthma: current perspectives // *J. Asthma Allergy*. 2018. Vol. 11. P.267–281. <https://doi.org/10.2147/JAA.S153097>

REFERENCES

1. Stemmler S., Arinir U., Klein W., Rohde G., Hoffjan S., Wirkus N., Reinitz-Rademacher K., Bufer A., Schultze-Werninghaus G., Epplen J.T. Association of interleukin-8 receptor α polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Genes Immun.* 2005; 6(3): 225–230. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364181>
2. Menyaylo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. [Interleukin-8 is able to support the pro-inflammatory activity of human monocytes (macro-

- phages)]. *Geny i kletki = Genes & Cells* 2018; 13(1): 65–69 (in Russian). <https://doi.org/10.23868/201805007>
3. Puthothu B., Krueger M., Heinze J., Forster J., Heinzmann A. Impact of IL8 and IL8-receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections. *Clin. Mol. Allergy* 2006; 4: 2. <https://doi.org/10.1186/1476-7961-4-2>
4. Habib N., Pasha M.A., Tang D.D. Current understanding of asthma pathogenesis and biomarkers. *Cells* 2022; 11(17): 2764. <https://doi.org/10.3390/cells11172764>
5. Yamasaki A., Okazaki R., Harada T. Neutrophils and asthma. *Diagnostics (Basel)* 2022; 12(5): 1175. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12051175>
6. Vasil'yeva G.I., Ivanova I.A., Tyukavkina S.Yu. [Cooperative interaction of mono- and polynuclear phagocytes, mediated by mono- and neutrophilokines]. *Immunology* 2000; (5): 11–17 (in Russian).
7. Williams H., Mack C., Baraz R., Marimuthu R., Naralashetty S., Li S., Medbury H. Monocyte differentiation and heterogeneity: Intersubset and interindividual differences. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(10): 8757. <https://doi.org/10.3390/ijms24108757>
8. Lyamina S.V., Shimshelashvili S.L., Kalish S.V., Malysheva E.V., Larionov N.P., Malyshev I.Yu. [Changes in phenotype and phenotypic flexibility of alveolar macrophages in inflammatory pulmonary diseases]. *Pulmonologiya = Russian Pulmonology* 2012; 6: 83–89 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-6-83-89>
9. Sarbaeva N.N., Ponomareva Yu.V., Milyakova M.N. [Macrophages. Diversity of phenotypes and functions, interaction with foreign materials]. *Geny i kletki = Genes & Cells* 2016; 11(1): 9–17 (in Russian).
10. Jiang Z., Zhu L. Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma. *J. Asthma Allergy* 2016; 9: 101–107. <https://doi.org/10.2147/JAA.S104508>
11. Nikonova A.A., Khaitov M.R., Khaitov R.M. [Characteristics and role of macrophages in pathogenesis of acute and chronic lung diseases]. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)* 2017; 19(6): 657–672 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-6-657-672>
12. Arora S., Deva K., Agarwal B., Dasc P., Ali Syed M. Macrophages: their role, activation and polarization in pulmonary diseases. *Immunobiology* 2018; 223(4-5): 383–396. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2017.11.001>
13. Fedorov A.A., Ermak N.A., Gerashchenko T.S., Topolnitsky E.B., Shefer N.A., Rodionov E.O., Stakheeva M.N. [Macrophage polarization: mechanisms, markers and induction factors] *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal = Siberian Journal of Oncology* 2022; 21(4): 124–136 (in Russian). <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136>
14. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2023 update). Available at: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2023/07/GINA-2023-Full-report-23_07_06-WMS.pdf
15. Djukanovic R., Sterk P.J., Fahy J.V., Hargreave F.E. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur. Respir. J. Suppl.* 2002; 37: 1s–2s. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00000102>
16. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. [Airway hyperresponsiveness]. Vladivostok: Dal'nauka; 2011 (in Russian). ISBN: 978-5-8044-1220-4
17. Hastie A.T., Moore W.C., Meyers D.A., Vestal P.L., Li H., Peters S.P., Bleecker E.R. Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125(5): 1028–1036. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.008>
18. Terekhov D.V. [Severe non-allergic bronchial asthma: characteristics of the phenotype and treatment features]. *Astma i allergiya* 2019; 3: 3–7 (in Russian).
19. Trushina E.Yu., Kostina E.M., Baranova N.I., Tipikin V.A. [The role of cytokines as molecular markers of inflammation in non-allergic bronchial asthma]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya* 2018; 4: 179 (in Russian). Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=27799>
20. Schroder K., Hertzog P.J., Ravasi T., Hume D.A. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.* 2004; 75(2): 163–189. <https://doi.org/10.1189/jlb.0603252>
21. Gougerot-Pocidalo M.A., Benna J., Elbim C., Chollet-Martin S., Dang M.C. Regulation of human neutrophil oxidative burst by pro- and anti-inflammatory cytokines. *Journal. Soc. Biol.* 2002; 196(1): 37–46.
22. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., McLaughlin N.J.D., Banerjee A., Silliman C.C. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 78(5): 1025–1042. <https://doi.org/10.1189/jlb.0804442>
23. Kolpakova A.F., Sharipov R.N., Latysheva E.N., Kolpakov F.A. [The transcription factor NF-kB plays a key role in the regulation of genes involved in inflammatory and immune reactions] *Sibirskoye meditsinskoye obozreniye = Siberian Medical Review* 2009; 3(57): 7–12 (in Russian).
24. Singh P., Hasan S., Sharma S., Nagra S., Yamaguchi D.T., Wong D.T.W., Hahn B.H., Hossain A. Th17 cells in inflammation and autoimmunity. *Autoimmun. Rev.* 2014; 13(12): 1174–1181. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.08.019>
25. Acosta-Rodriguez E.V., Napolitani G., Lanzavecchia A., Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat. Immunol.* 2007; 8(9): 942–949. <https://doi.org/10.1038/ni1496>

26. Al-Ramli W., Pre'fontaine D., Chouiali F., Martin J.G., Olivenstein R., Lemie're C., Hamid Q. T(H)17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123(5): 1185–1187. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.02.024>
27. Lindén A., Dahlén B. Interleukin-17 cytokine signalling in patients with asthma. *Eur. Respir. J.* 2014; 44(5): 1339–1331. <https://doi.org/10.1183/09031936.00002314>
28. Duvall M.G., Krishnamoorthy N., Levy B.D. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasts and maintained by defective resolution. *Allergol. Int.* 2019; 68(2): 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2018.11.006>
29. Esteban-Gorgojo I., Antolín-Amérigo D., Domínguez-Ortega J., Quirce S. Non-eosinophilic asthma: current perspectives. *J. Asthma Allergy* 2018; 11: 267–281. <https://doi.org/10.2147/JAA.S153097>

Информация об авторах:

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Анна Григорьевна Приходько, д-р мед. наук, главный научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: prih-anya@ya.ru

Юлий Михайлович Перельман, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: jperelman@mail.ru

Author information:

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Senior Staff Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; email: dncfpd@dncfpd.ru

Anna G. Prikhodko, MD, PhD, DSc (Med.), Main Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: prih-anya@ya.ru

Juliy M. Perelman, MD, PhD, DSc (Med.), Corresponding Member of RAS, Professor, Deputy Director on Scientific Work, Head of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: jperelman@mail.ru

Поступила 26.12.2023
Принята к печати 20.02.2024

Received December 26, 2023
Accepted February 20, 2024