© Коллектив авторов, 2020

Галицкая М.А.¹, Курбачёва О.М.¹, Шиловский И.П.¹, Никольский А.А.¹,
Никонова А.А.^{1,2}, Дынева М.Е.¹, Хаитов М.Р.¹

Некоторые особенности воспаления у пациентов с atopической бронхиальной астмой при воздействии респираторных вирусов

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, 115522, г. Москва, Российская Федерация² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства высшего образования и науки Российской Федерации, 105064, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Введение. Современная трактовка патогенеза бронхиальной астмы (БА) подчеркивает роль системного воспаления при БА, так как его развитие под воздействием специфических (аллергены) и неспецифических факторов приводит к нарушению баланса про- и противовоспалительных цитокинов в дыхательных путях. Установлено, что большинство обострений БА возникают при влиянии респираторной вирусной инфекции (РВИ). Процесс воспаления в респираторном тракте при вирус-индуцированных обострениях БА зависит от вида респираторного вируса, а также от фенотипа и эндотипа БА у пациента. На основании исследований *in vitro* и *in vivo* описана роль интерлейкина-33 (ИЛ-33) в патогенезе обострения atopической БА модели на мышах.

Цель исследования – определение экспрессии гена *IL33* и изучение роли ИЛ-33 в развитии atopической БА и при ее вирус-индуцированном обострении у человека.

Материал и методы. В исследование отобраны добровольцы, которые были распределены на группы: «БА», «БА+РВИ», «РВИ», здоровые доноры. Всем участникам исследования проведено клиническое, лабораторное, инструментальное (спирометрия), аллергологическое, иммунологическое обследование (определение экспрессии мРНК гена *IL33* в периферической венозной крови и детекция мРНК респираторных вирусов (РСВ, РВ, коронавирусы, вирусы гриппа типа А и В, метапневмовирусы, аденовирусы, бокавирусы, вирусы парагриппа 1, 2, 3, 4-го типа) в мазках из полости носа методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Результаты. В группах «БА» и «БА+РВИ» отмечали уменьшение ОФВ₁, увеличение показателя АСQ-7 (более 1,5 балла), эозинофилии крови ($P = 0,000002$), что характеризует неконтролируемое течение и обострение atopической БА у добровольцев. Наиболее высокий уровень экспрессии мРНК *IL33* детектировался в группе «БА+РВИ» ($P = 0,003$), а при отсутствии РВИ у пациентов с обострением atopической БА фиксировался уровень ИЛ-33, не отличающийся от здоровых доноров. По результатам нашего исследования более тяжелое течение atopической БА отмечалось в сезон с преобладанием РСВ-инфекции в 2017 г. по сравнению с 2016 г. по данным АСQ-7 ($P = 0,00004$ и $P = 0,0002$) и ОФВ₁ ($P = 0,006$ и $P = 0,008$) соответственно.

Заключение. Результаты исследования представляют дополнительные доказательства роли провоспалительного ИЛ-33 в патогенезе РВИ и вирус-индуцированных обострений atopической БА (чаще всего РСВ и РВ). Выявление новых механизмов вирус-индуцированных обострений atopической БА может быть использовано при подборе и разработке персонализированной базисной противоастматической терапии.

Ключевые слова: бронхиальная астма; интерлейкины; цитокины; респираторная вирусная инфекция; респираторно-синцитиальные вирусы; риновирусы

Статья поступила 14.01.2020. Принята в печать 20.02.2020.

Для цитирования: Галицкая М.А., Курбачёва О.М., Шиловский И.П., Никольский А.А., Никонова А.А., Дынева М.Е., Хаитов М.Р. Некоторые особенности воспаления у пациентов с atopической бронхиальной астмой при воздействии респираторных вирусов. Иммунология. 2020; 41 (2): 154–163. DOI: 10.33029/0206-4952-2020-41-2-154-163

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 19-15-00272.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Галицкая Мариола Александровна –
аспирант
ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии»
ФМБА России, Москва,
Российская Федерация
E-mail: galitskaya.mariola@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2686-024X>

Galitskaya M.A.¹, Kurbacheva O.M.¹, Shilovskiy I.P.¹, Nikolsky A.A.¹,
Nikonova A.A.^{1,2}, Dyneva M.E.¹, Khaitov M.R.¹

Several features of inflammation at the patients with atopic bronchial asthma when exposed to respiratory viruses

¹ National Research Center – Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency, 115522, Moscow, Russian Federation

² I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Ministry of High Education and Science of the Russian Federation, 105064, Moscow, Russian Federation

Abstract

The modern interpretation of the pathogenesis bronchial asthma (BA) emphasizes the role of systemic inflammation at the BA, since its development under the influence of specific (allergens) and non-specific factors leads to an imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines in the airways. It has been established that most exacerbations of BA occur due to the influence of respiratory viral infection (RVI). The process of inflammation in the airways with virus-induced exacerbations of BA depends on the type of respiratory virus, and also phenotype and endotype of BA at the patient. Based on *in vitro* and *in vivo* studies, the role of interleukin-33 (IL-33) in the pathogenesis exacerbation of atopic BA in the mouse model is described.

The aim of our work is to determine the *IL33* gene expression and study its role during development of atopic BA and its virus-induced exacerbation in humans.

Material and methods. All volunteers included in the study were divided into groups: «BA», «BA+RVI», «RVI», «healthy donors». All study participants underwent clinical, laboratory, instrumental (spirometry), allergological, immunological examination (determination the expression mRNA of the *IL33* gene in peripheral venous blood and identification the mRNA of respiratory viruses (RSV, RV, coronaviruses, influenza virus type A and B, metapneumoviruses, adenoviruses, bokaviruses, parainfluenza viruses type 1, 2, 3, 4) in smears from the nasal cavity by RT-PCR).

Results. In the «BA» and «BA+RVI» groups were observed the decrease FEV₁, increased the ACQ-7 (more than 1.5 points), the blood eosinophilia ($P = 0.000002$), which characterizes the uncontrolled course and exacerbation of atopic BA from volunteers. The highest level of the expression mRNA IL-33 was found at the «BA+RVI» group ($P = 0.003$), and in the absence of RVI in volunteers with exacerbation of atopic BA the level of IL-33 not differs from healthy donors. According to the results of our study the more severe course of atopic BA was observed in the season with a predominance of RSV infection in 2017 compared to 2016 according to ACQ-7 ($P = 0.00004$ and $P = 0.0002$) and FEV₁ ($P = 0.006$ and $P = 0.008$), respectively.

Conclusions. The results of the study provide additional evidence of the role of pro-inflammatory IL-33 in the pathogenesis of RVI and virus-induced exacerbations of atopic BA (most often RSV and RV). Identification of new mechanisms of virus-induced exacerbations of atopic BA can be used in the selection and development of personalized basic therapy of asthma.

Keywords: bronchial asthma; interleukins; cytokines; respiratory viral infection; respiratory syncytial viruses; rhinoviruses

Received 14.01.2020. Accepted 20.02.2020.

For citation: Galitskaya M.A., Kurbacheva O.M., Shilovskiy I.P., Nikolsky A.A., Nikonova A.A., Dyneva M.E., Khaitov M.R. Several features of inflammation at the patients with atopic bronchial asthma when exposed to respiratory viruses. *Immunologiya*. 2019; 41 (2): 154–63. DOI: 10.33029/0206-4952-2020-41-2-154-163 (in Russian)

Funding. Work was financially supported by the Russian Science Foundation grant No. 19-15-00272.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Введение

Бронхиальная астма (БА) на сегодняшний день является одним из самых распространенных воспалительных заболеваний дыхательных путей [1]. Распространенность БА в России среди взрослого населения составляет 6,9 %, а среди детей и подростков – около

10 % [2, 3]. БА снижает качество жизни и трудоспособность пациентов, а также приводит к существенным экономическим потерям для государства. Одним из нежелательных исходов течения БА являются обострения патологического процесса, в случае развития которых пациенты вынуждены обращаться за помощью

For correspondence
Mariola A. Galitskaya –
Postgraduate Student,
NRC Institute of Immunology
FMBA of Russia,
Moscow, Russian Federation
E-mail: galitskaya.mariola@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2686-024X>

в стационары и отделения неотложной терапии, оставаться нетрудоспособными в течение существенного промежутка времени. Каждое обострение БА снижает функциональный резерв легких пациентов, требует увеличения дозы ингаляционных глюкокортикостероидов в базисной терапии и назначения системных стероидов, обладающих в том числе рядом побочных действий [4]. Более того, именно обострения БА становятся основной причиной смертности от данного заболевания. Следовательно, необходимо разрабатывать комплекс мер для снижения количества обострений БА, так как каждый такой эпизод является риском нежелательных исходов для пациента [1].

Особое внимание уделяется роли хронического воспаления в дыхательных путях при БА, которое клинически проявляется возникновением респираторных симптомов при влиянии этиологических и других триггерных факторов. Важно понимать, что существует взаимовлияние системного и локального воспалительного процесса при БА. При первом взаимодействии со специфическими (аллергены) и неспецифическими факторами происходит первичная дисрегуляция про- и противовоспалительных цитокинов, в дальнейшем формируется системное и локальное воспаление, и их персистирование в конечном счете приводит к развитию гиперреактивности и ремоделирования бронхов [1]. Изменения цитокинового спектра в дыхательных путях с преобладанием провоспалительных цитокинов поддерживают системное персистирующее воспаление при БА.

Рассматривая подходы к противоастматической терапии, ученые делали акцент на двух патофизиологических аспектах: модификации дыхательных путей и происходящих в них воспалительных иммунологических процессах [5]. Недавние исследования указывают на значительную роль Т2-цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13) в патогенезе БА, что способствовало развитию антицитокиновой противоастматической терапии [6]. Несмотря на это, продолжается активный поиск новых молекул-мишеней, участвующих в патогенезе БА [5], при воздействии на которые возможно появление терапевтического эффекта.

В научных публикациях рассматривается возможная детерминирующая роль провоспалительного цитокина ИЛ-33 в развитии аллергических заболеваний [7, 8]. Он является новым членом семейства цитокинов ИЛ-1. ИЛ-33 реализует свою функциональную роль за счет связывания со специфическим первичным рецептором ST2 и дополнительным белком корецептора ИЛ-1 (IL-1RAcP) [9]. Известно, что растворимый ИЛ-33 увеличивает секрецию Т2-цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13) и действует как хемоаттрактант для Т2-лимфоцитов как *in vivo*, так и *in vitro*. ИЛ-33 участвует в патогенезе многих иммунопатологических состояний: артрита, анафилактического шока, аутоиммунных заболеваний и др. [10]. Участие ИЛ-33 в патогенезе атопической БА было выявлено и подтверждено исследованиями на различных животных моделях [11].

Респираторные вирусы, такие как риновирусы (RV), респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) человека, являются основными причинами обострения БА [12]. Высокпатогенные штаммы респираторных вирусов вызывают тяжелое повреждение легких, а инфицированные клетки продуцируют большое количество провоспалительных цитокинов и хемокинов, что может вызвать среднее или тяжелое обострение БА [6,13].

В связи с недостаточной информацией о функциональном значении ИЛ-33 при обострении атопической БА, вызванном воздействием РВИ, мы попытались провести исследование, наблюдая за пациентами с атопической БА.

Материал и методы

Критерии включения/исключения добровольцев в исследование

Работа проведена на базе отделения «Бронхиальная астма» клиники ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России с 2016 по 2017 г. Участие в исследовании являлось добровольным, набор пациентов в основном проводился на амбулаторном приеме, а также в условиях стационара в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА 2000 г. Исследование было одобрено локальным комитетом по этике. До включения в исследование добровольцы давали свое устное и письменное согласие (форма информации для больного и информированного согласия). После подписания информированного согласия на участие в исследовании всем добровольцам проводилось скрининговое обследование.

Критерии включения добровольцев в исследование:

1. Возраст от 18 до 75 лет, подписанное информированное согласие, способность к адекватному сотрудничеству в процессе исследования.

2. Для групп «БА» и «БА+РВИ» – анамнез атопической БА средней и тяжелой степени тяжести не менее двух лет.

3. Для групп «БА+РВИ» и «РВИ» – симптомы РВИ в течение последних семи дней.

4. Для групп «БА» и здоровые доноры – отсутствие симптомов РВИ в течение последних 30 дней.

Критерии исключения добровольцев из исследования:

1. Для всех групп пациентов: паразитарная инвазия в течение последних 6 мес, туберкулез легких (активная и неактивная формы), онкопатология, системная стероидная терапия, антилейкотриеновая терапия, беременность, лактация, наличие других заболеваний дыхательных путей или острых состояний, способных существенно повлиять на результат исследования; нежелание пациента принимать дальнейшее участие в исследовании.

2. Для групп «БА» и здоровые доноры – наличие симптомов РВИ в течение последних 30 дней.

Добровольцы ($n = 48$), включенные в исследование в 2016 г., были распределены в четыре группы: «БА» ($n = 25$), «БА+РВИ» ($n = 6$), «РВИ» ($n = 9$), здоровые

доноры ($n = 8$). Добровольцы ($n = 51$), включенные в исследование в 2017 г., были также распределены в четыре группы: «БА» ($n = 13$), «БА+РВИ» ($n = 10$), «РВИ» ($n = 11$), здоровые доноры ($n = 17$). Соответственно, за 2016 и 2017 гг. в исследование были включены 99 добровольцев.

Скрининговое обследование добровольцев

Скрининговое клиническое обследование включало регистрацию субъективных жалоб, анамнез заболевания, аллергологический анамнез [перенесенные и сопутствующие системные заболевания; медикаментозная терапия на момент включения в исследование (все системные и топические препараты); данные о наличии лекарственной аллергии]; демографические данные (пол, возраст) (табл. 1).

Проводили анкетирование участников исследования с помощью опросника контроля астмы (Asthma Control Questionnaire, ACQ-7), затем его результат в баллах (сумма баллов/7) оценивали как субъективный критерий контроля БА по мнению пациента.

Аллергологическое обследование всем участникам исследования проводили методом скарификационного кожного тестирования с диагностическими водно-солевыми небактериальными аллергенами. Добровольцам из групп «БА» и «БА+РВИ» с подтвержденной атопией клинически и анамнестически проведено исследование образцов сыворотки крови для определения аллерген-специфических IgE с помощью тест-системы ImmunoCAP Phadia к небактериальным аэроаллергенам [домашняя пыль ($h1$, $h2$), пылевые клещи (*D. pteronyssinus* – $d1$, *D. farinae* – $d2$), кошка ($e1$), собака ($e5$), смесь пыльцы деревьев ($tx1$), смесь пыльцы луговых трав ($gx1$), смесь сорных трав ($wx7$)].

Инструментальное обследование добровольцев

Инструментальное обследование включало проведение и оценку функции внешнего дыхания (объем форсированного дыхания за 1 сек, ОФВ₁) с помощью спирометра (MasterScreen IOS spirometer, CareFusion, Германия). Также всем добровольцам проводили клинический анализ крови с определением лейкоцитарной формулы (гепаринизированная венозная кровь по 10 мл на аппарате Beckman Coulter LH500 Hematology Analyzer, США).

Идентификация респираторных вирусов

У каждого включенного в исследование добровольца брали мазок из слизистой оболочки носовой полости для последующего выделения общей РНК с использо-

ванием коммерческого набора RNase mini kit (Qiagen, Германия). Идентификацию респираторных вирусов (РСВ, РВ, коронавирусы, вирусы гриппа типа А и В, метапневмовирусы, аденовирусы, бокавирусы, вирусы парагриппа 1, 2, 3, 4-го типа) осуществляли методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с использованием набора «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL», согласно инструкции производителя (ИнтерЛабСервис, Москва).

Оценка уровня экспрессии цитокинов в мононуклеарах периферической крови

Периферическую кровь отбирали в специальные гепаринизированные пробирки для последующего выделения мононуклеарных клеток периферической крови (МНПК) методом разделения на фиколле. Клетки засеивали в 12-луночный планшет в количестве 5 млн в 1 мл на лунку и в течение суток стимулировали фитогемагглютинином (ФГА) 20 мкг/мл. Затем клетки лизировали в буфере RLT и выделяли РНК как описано выше. Синтез кДНК осуществляли набором ОТ-1 («Синтол», Москва) согласно инструкции производителя. Экспрессию гена *IL33* оценивали методом ПЦР-РВ.

Статистический анализ данных

Статистический анализ полученных данных проводили при помощи пакета статистических программ Statistica 12.0. На основании W-критерия Шапиро–Уилка проверялась нормальность распределения представленных групп. В ходе анализа было получено, что данные выборки не подчиняются нормальному распределению, поэтому их приводили в виде медианы и верхнего и нижнего квартилей [Me , ($Q_{25\%}$; $Q_{75\%}$)], а также указывали максимальные и минимальные значения.

Сравнение независимых групп проводилось с помощью H-критерия Краскела–Уоллиса для оценки значимой межгрупповой изменчивости более чем в двух группах, различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. В дальнейшем сравнение между группами проводилось с учетом поправки Бонферрони при оценке значения P (различия считались статистически значимыми при $P \leq 0,008$) с помощью U-критерия Манна–Уитни.

Результаты

Спектр сенсibilизации и респираторных вирусных патогенов у обследованных добровольцев

У всех добровольцев групп «БА» ($n = 38$) и «БА+РВИ» ($n = 16$) выявлена полисенсibilизация по данным аллергоанамнеза и результатам кожного аллер-

Таблица 1. Демографическая характеристика участников исследования

Группа	Пол		Средний возраст, годы
	мужской	женский	
«БА», $n = 38$	16	22	40,0 [32,0;53,0]
«БА+РВИ», $n = 16$	6	10	59,0 [33,0;62,0]
«РВИ», $n = 20$	8	12	27,0 [23,0;33,0]
Здоровые доноры, $n = 25$	8	17	26,0 [24,0;29,0]

гологического тестирования. Все добровольцы имели сенсibilизацию к круглогодичным аллергенам (домашняя пыль и ее компоненты, эпидермальные аллергены), часть из них были сенсibilизированы и к пыльцевым аллергенам. Для выявления преобладающего причинно-значимого аллергена у добровольцев групп «БА» ($n = 13$) и «БА+РВИ» ($n = 10$) в 2017 г. с помощью генератора случайных чисел отобрано по 7 образцов сыворотки крови из каждой группы, в которых были определены аллерген-специфические IgE-антитела к небактериальным аэроаллергенам. Следовательно, объективно подтверждена атопия и выявлены высокие значения аллерген-специфических IgE, соответствующих клинической картине гиперчувствительности каждого добровольца с атопической БА. Распределение полисенсibilизации среди добровольцев группы «БА» выглядело следующим образом: бытовая (домашняя пыль 100 %), пыльцевая (пыльца деревьев 85,71 %, пыльца злаковых трав

85,71 %, пыльца сорных трав 28,57 %), эпидермальная (кошка 71,42 %, собака 57,14 %) сенсibilизация. При этом в группе «БА+РВИ» распределение сенсibilизации было следующим: бытовая (домашняя пыль 71,42 %), эпидермальная (кошка 42,85 %, собака 42,85 %), пыльцевая (пыльца деревьев 42,86 %, пыльца злаковых трав 28,57 %, пыльца сорных трав 28,57 %) сенсibilизация (рис. 1А).

Анализируя данные ПЦР-РВ в мазках из полости носа в группах «БА+РВИ» и «РВИ», мы отметили, что за весь период наблюдения среди изучаемых респираторных вирусов преобладали РСВ и РВ (рис. 1Б). В 2016 г. в группе «БА+РВИ» ($n = 6$) вирусные патогены были представлены следующим образом: РВ (36,4 %), РСВ (36,4 %), вирус парагриппа человека типа 1 (9,1 %) и коронавирусы (18,2 %); а в группе «РВИ» ($n = 9$): РВ (42,9 %), коронавирусы (35,7 %), РСВ (7,1 %), вирус парагриппа человека типа 3 (7,1 %) и ви-

Рис. 1. Спектр сенсibilизации (А) и респираторных вирусных патогенов (Б)

Рис. 2. Клиническая характеристика добровольцев по OFV_1

Рис. 3. Клиническая характеристика добровольцев по ACQ-7

рус гриппа типа А (7,1 %). При анализе данных за 2017 г. в группе «БА+РВИ» ($n = 10$) преобладали РСВ (80 %), коронавирусы (10 %) и метапневмовирусы (10 %); а в группе «РВИ» ($n = 11$) – РСВ (58,3 %), РВ (25 %), коронавирусы (8,3 %) (см. рис. 1Б). Таким образом, в 2016 г. преобладал РВ (40 %), а в 2017 г. – РСВ (68 %) ($P = 0,0005$) (рис. 1Б).

Влияние респираторных вирусов на течение atopической БА

В рамках исследования при оценке результатов спирометрии всех добровольцев мы использовали OFV_1 как главный показатель обструктивных изменений дыхания при БА, а в качестве инструмента контроля течения БА использовали анкетирование с помощью ACQ-7 (суммарный балл меньше 1,5 при контролируемом течении БА, больше 1,5 баллов – отсутствие контроля БА) [14].

Установлено, что OFV_1 в группе «БА+РВИ» имел тенденцию к снижению при сравнении данных за 2016 и 2017 гг. (рис. 2), но статистически значимых изменений не выявлено. При этом за 2017 г. в группе «БА+РВИ» [70,5 (61,0; 92,0) %] было отмечено статистически значимое снижение по сравнению с группой «РВИ» [84,0 (76,0; 93,0) %, $P = 0,001$]. При сопоставлении данных за 2016 г. статистически значимые изменения ($P = 0,008$) были между группами «БА» [77,5 (60,0; 99,0) %] и «РВИ» [99,1 (93,4; 108,2) %] (см. рис. 2).

При анализе данных опросника ACQ-7 его общий балл (рис. 3) был значительно больше в 2017 г. в группах «БА» и «БА+РВИ» [2,43 (2,0; 2,86) и 3,2 (3,0; 4,14), соответственно] по сравнению с группой здоровых доноров ($P = 0,000004$ и $P = 0,00002$, соответственно) и группой «РВИ» ($P = 0,00004$ и $P = 0,00005$, соответственно).

При сравнении данных за 2016 г. также было отмечено, что ACQ-7 был больше в группе «БА» и «БА+РВИ» [1,71 (0,71; 2,29) и 1,86 (0,86; 2,71), соответственно] по сравнению с группой здоровых доноров ($P = 0,008$ и $P = 0,002$, соответственно) и группой «РВИ» ($P = 0,0002$ и $P = 0,002$, соответственно) (рис. 3).

Изменение клеточного состава периферической крови

Интерпретация лейкоцитарной формулы крови за 2016 и 2017 гг. выявила большее количество лейкоцитов в периферической крови в группе «БА+РВИ» по сравнению с остальными группами (рис. 4). Высокий уровень нейтрофилов ожидаемо определялся в группах добровольцев, страдающих atopической БА (группы «БА» и «БА+РВИ»). Моноциты были значительно выше в группе «БА+РВИ» по сравнению с группой «БА» и здоровыми донорами (см. рис. 4). Общее количество лимфоцитов в периферической крови было сопоставимым во всех группах (см. рис. 4).

Изменение экспрессии провоспалительных цитокинов

В ходе исследования за 2016 и 2017 гг. мы определяли экспрессию гена провоспалительного цитокина ИЛ-33 в МНПК, стимулированных ФГА. Было выявлено почти десятикратное повышение уровня ИЛ-33 при РВИ. Установлено увеличение уровня экспрессии мРНК *IL33* в группах «БА+РВИ» по сравнению с группой «БА» ($P = 0,003$) (рис. 5). При этом повышенная экспрессия данного цитокина не выявлена в группе «БА» по сравнению со здоровыми добровольцами (рис. 5). Эти данные свидетельствуют, что именно РВИ, а не аллергическое воспаление, способствуют активации экспрессии ИЛ-33.

Обсуждение

Данное исследование посвящено изучению влияния РВИ на течение атопической БА. В исследование включено 99 добровольцев. При детекции вирусной РНК методом ПЦР-РВ у добровольцев групп «БА+РВИ» и «РВИ» выявлено, что чаще всего встречаются РСВ (43%) и РВ (28%) как наиболее распространенные респираторные вирусы, что согласуется с данными других авторов [22, 23].

У пациентов с БА в группах «БА» и «БА+РВИ» отмечалось снижение значений $ОФВ_1$, увеличение показателя АСQ-7, повышение эозинофилии в крови. Это характеризует наличие обострения БА у добровольцев на момент включения в исследование. Различий по показателю $ОФВ_1$ групп «БА» и «БА+РВИ» не выявлено, однако в 2016 г., и в 2017 г. отмечалось значительное повышение АСQ-7 при РВИ на фоне БА. Это свидетельствует о том, что РВИ делают течение астмы менее контроли-

Рис. 4. Клеточный состав периферической крови добровольцев всех сравниваемых групп

Рис. 5. Экспрессия мРНК ИЛ-33 в активированных МНПК

Рис. 6. Экспрессия мРНК *IL33* в полипозной ткани

БА – бронхиальная астма; аБА – atopическая БА; нБА – неаллергическая БА; ПРС – полипозный риносинусит.

руемым. Стоит отметить, что в 2017 г. показатель ACQ-7 в группах «БА» и «БА+РВИ» был существенно выше, чем в 2016 г. Вероятно, это связано с тем, что в 2017 г. наиболее частым патогеном был РСВ (68 % от всех выявленных РВИ), который, по всей видимости, приводит к более тяжелому течению БА, чем РВ, который был наиболее распространен в 2016 г. (40 % от всех выявленных РВИ). Данное утверждение о более агрессивном влиянии РСВ на патогенез БА в сравнении с другими РВИ отчасти подтверждается тем фактом, что в 2017 г. значения ОФВ₁ были минимальными именно в группе «БА+РВИ».

В группах «БА» и «БА+РВИ» не обнаружено различий по количеству эозинофилов в крови. Это указывает, что эозинофильное воспаление доминирует вне зависимости от причинного фактора формирования обострения БА даже на фоне острого системного воспаления, вызванного респираторными вирусами.

Кроме того, повышенное количество лейкоцитов в периферической венозной крови было обнаружено в группе «БА+РВИ». Это свидетельствует о том, что острая вирусная инфекция проявляется острым инфекционным системным воспалением, которое утяжеляет течение аллергического воспаления при atopической БА, что формирует и поддерживает неконтролируемое течение и последующее обострение atopической БА.

Согласно современным данным, одним из основных факторов, запускающим вирус-индуцированные обострения БА, является провоспалительный цитокин ИЛ-33 [12]. ИЛ-33 принадлежит к семейству ИЛ-1 и ассоциируется с активацией и усилением как системного, так и локального Т2-ответа [15]. Он может способствовать развитию воспалительного процесса и прогрессированию не только БА [8], но и хронической обструктивной болезни легких [16].

Мы выявили высокую экспрессию мРНК *IL33* в МНПК при вирусной инфекции, но не при аллергическом воспалении дыхательных путей (см. рис. 5).

Известно, что ИЛ-33 в основном продуцируется в эпителиальных клетках, но он может экспрессироваться и многими другими типами клеток, включая дендритные клетки, макрофаги, моноциты, тучные клетки и др. [17]. Мы выявили значительное увеличение экспрессии ИЛ-33 в стимулированных МНПК. Мы считаем, что в популяции МНПК продуцентами ИЛ-33 могли выступать моноциты, что повреждается работами других авторов [18]. Отчасти, это подтверждается тем фактом, что количество моноцитов значительно увеличивалось в группе «БА+РВИ». Таким образом, полученные нами данные подтверждают роль ИЛ-33 как фактора, запускающего вирус-индуцированные обострения БА.

В проведенных нами ранее исследованиях на лабораторных мышах были получены сходные результаты. В частности, мы выявляли значительное увеличение экспрессии ИЛ-33 в легких при индукции у мышей atopической БА на фоне респираторной вирусной инфекции [19].

В другом нашем исследовании изучались механизмы влияния полипозного риносинусита (ПРС) на течение БА. Нами было выявлено более тяжелое и неконтролируемое течение БА в сочетании с ПРС по сравнению с группой «ПРС без БА». В этом исследовании мы также определяли уровень экспрессии ИЛ-33 и обнаружили его статистически значимое повышение ($P = 0,006$) у пациентов с atopической БА в сочетании с ПРС по сравнению с группой «неаллергическая БА в сочетании с ПРС». Повышение экспрессии ИЛ-33 способствовало усилению воспаления, тем самым усугубляло течение и БА, и ПРС [20] (рис. 6). Полученные результаты не только подтвердили этот факт, но и показали, что при сочетании atopической БА с ПРС и/или РВИ уровень провоспалительного цитокина ИЛ-33 повышается в большой степени, т.е. ИЛ-33 участвует в развитии/усугублении воспаления, приводящего к утяжелению симптомов БА и уменьшению эффективности ее стандартной терапии.

Таким образом, полученные нами данные подтверждают решающую роль ИЛ-33 в развитии воспалительного ответа при вирусной инфекции у человека и при вирус-индуцированном обострении БА. В частности, ИЛ-33 может стимулировать аллергическое воспаление путем селективной активации эффекторных клеток – базофилов и эозинофилов [21, 22].

Заключение

Результаты исследования представляют дополнительные доказательства роли провоспалительного ИЛ-33 в патогенезе вирус-индуцированных обострений атопической БА (чаще всего патогенами РСВ и РВ). На основании полученных нами данных можно акцентировать внимание на триггерном воздействии респираторных вирусов на течение и прогноз БА. Выявление новых механизмов формирования вирус-индуцированных обострений атопической БА может быть использовано при подборе и разработке персонализированной

базисной противоастматической терапии, в частности для пациентов, страдающих атопической БА с частыми вирус-индуцированными обострениями. Полученные данные о роли провоспалительного ИЛ-33 в развитии каскада иммунных реакций при РВИ и при вирус-индуцированном обострении атопической БА могут быть использованы для разработки новых молекул (моноклональные антитела против ИЛ-33), предназначенных для подавления персистирующего системного и локального воспаления при атопической БА и профилактики ее обострений, вызванных респираторными вирусами.

ИЛ-33 может стать потенциальной мишенью для противоастматической таргетной терапии, которая повысит эффективность стандартной базисной терапии, а следовательно, качество жизни пациентов с атопической БА значительно улучшится и не будет зависеть от частых эпидемий и пандемий РВИ, эпизодов стационарного лечения и потери трудоспособности по поводу обострений БА.

Литература

1. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2016 update). GINA. 2016. URL: www.ginasthma.org. (дата обращения: 14.04.2017)
2. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы. 2016. URL: www.pulmonology.ru. (дата обращения: 06.09.2017)
3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 2012 (IV издание).
4. Heffler E., Bagnasco D., Canonica G.W. Strategies to reduce corticosteroid-related adverse events in asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol* 2019; 19 (1): 61–7.
5. Галицкая М.А., Курбачёва О.М. Современные представления о роли врожденного и приобретенного иммунитета при бронхиальной астме. *Российский аллергологический журнал*. 2018; 6: 7–17.
6. Shilovskiy I.P., Eroshkina D.V., Babakhin A.A., Khaitov M.R. Anticytokine therapy of allergic asthma. *Mol. Biol.* 2017; 51 (1): 1825–48.
7. Salter B.M., Oliveria J.P., Nusca G., Smith S.G. et al. IL-25 and IL-33 induce Type 2 inflammation in basophils from subjects with allergic asthma. *Respir. Res.* 2016; 17: 5.
8. Prefontaine D., Nadigel J., Chouiali F., Audusseau S. et al. Increased IL-33 expression by epithelial cells in bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125 (3): 752–4.
9. Liu X., Hammel M., He Y.F., Tainer J.A. et al. Structural insights into the interaction of IL-33 with its receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110 (37): 14 918–23.
10. Багаутдинова Э.Г., Каримов Д.О., Мухаммадиева Г.Ф., Шаталина А.У., Бакиров А.Б. Роль полиморфного локуса rs3939286 гена IL33 в развитии аллергического ринита у работников агропромышленных производств. *Иммунология*. 2016; 37 (2): 76–8.
11. Khaitov M.R., Gaisina A.R., Shilovskiy I.P., Smirnov V.V. et al. The role of interleukin-33 in pathogenesis of bronchial asthma. New experimental data. *Biochemistry (Moscow)*. 2018; 83 (1): 13–25.
12. Jackson D.J., Gangnon R.E., Evans M.D., Roberg K.A. et al. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 178 (7): 667–72.
13. Jackson D.J., Johnston S.L. The role of viruses in acute exacerbations of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125 (6): 1178–87.
14. Plaza V., Ramos-Barbón D., Muñoz A.M., Fortuna A.M. et al. Exhaled nitric oxide fraction as an add-on to ACQ-7 for not well controlled asthma detection. *PLoS One*. 2013; 25 (10): e77085.
15. Makrinioti H., Toussaint M., Jackson D.J., Walton R.P. et al. Role of interleukin 33 in respiratory allergy and asthma. *Lancet Respir. Med* 2014; 2 (3): 226–37.
16. Xia J., Zhao J.L., Shang J., Li M. et al. Increased IL-33 expression in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2015; 308 (7): L619–27.
17. Furukawa S., Moriyama M., Miyake K., Nakashima H. et al. Interleukin-33 produced by M2 macrophages and other immune cells contributes to Th2 immune reaction of IgG4-related disease. *Sci. Rep* 2017; 7 (42413): 1–10.
18. Nile C.J., Barksby E., Jitprasertwong P., Preshaw P.M. et al. Expression and regulation of interleukin-33 in human monocytes. *Immunology*. 2010; 130 (2): 172–80.
19. Khaitov M.R., Shilovskiy I.P., Nikonova A.A., Shershakova N.N. et al. Small interfering RNAs targeted to interleukin-4 and respiratory syncytial virus reduce airway inflammation in a mouse model of virus-induced asthma exacerbation. *Hum. Gene Ther.* 2014; 25 (7): 642–50.
20. Pecaric-Petkovic T., Didichenko S.A., Kaempfer S., Spiegl N. et al. Human basophils and eosinophils are the direct target leukocytes of the novel IL-1 family member IL-33. *Blood* 2009; 113 (7): 1526–34.
21. Galitskaya M.A., Shilovskiy I.P., Nikonova A.A., Gaisina A.R. et al. Increased il-33 expression in atopic bronchial asthma patients with confirmed viral respiratory infection. *Allergy*. 2018; 73 (105): 298.
22. Newcomb D.C., Peebles R.S. Jr. Bugs and asthma: a different disease? *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2009; 6 (3): 266–71.
23. Dyneva M., Kurbacheva O., Shilovskiy I., Kovchina V. et al. Analysis of the expression of Th-1, Th-2, Th-17 cytokines in patients with allergic and non- allergic bronchial asthma associated with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergy*. 2019; 74 (106): PD0361.

References

1. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2016 update). GINA. 2016. URL: www.ginasthma.org. (date of access April 14, 2017)
2. Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of bronchial asthma. 2016. URL: www.pulmonology.ru. (date of access September 6, 2017) (in Russian)
3. National program «Bronchial asthma in children. Treatment Strategy and Prevention». 2012 (IV edition) (in Russian)
4. Heffler E., Bagnasco D., Canonica G.W. Strategies to reduce corticosteroid-related adverse events in asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol* 2019; 19 (1): 61–7.

5. Galitskaya M.A., Kurbacheva O.M. The modern ideas about the role of innate and adaptive immunity in bronchial asthma. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal*. 2018; 6: 7–17 (in Russian)
6. Shilovskiy I.P., Eroshkina D.V., Babakhin A.A., Khaitov M.R. Anticytokine therapy of allergic asthma. *Mol. Biol.* 2017; 51 (1): 1825–48.
7. Salter B.M., Oliveria J.P., Nusca G., Smith S.G., et al. IL-25 and IL-33 induce Type 2 inflammation in basophils from subjects with allergic asthma. *Respir. Res.* 2016; 17: 5.
8. Prefontaine D., Nadigel J., Chouiali F., Audusseau S., et al. Increased IL-33 expression by epithelial cells in bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125 (3): 752–4.
9. Liu X., Hammel M., He Y.F., Tainer J.A., et al. Structural insights into the interaction of IL-33 with its receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110 (37): 14 918–23.
10. Bagautdinova G.E., Karimov D.O., Mukhammadiyeva G.F., Shagalina A.U., Bakirov A.B. Role of the polymorphic locus rs3939286 IL33 gene in the development of allergic rhinitis in workers allelopathic productions. *Immunologiya*. 2016; 37 (2): 76–8. (in Russian)
11. Khaitov M.R., Gaisina A.R., Shilovskiy I.P., Smirnov V.V., et al. The role of interleukin-33 in pathogenesis of bronchial asthma. New experimental data. *Biochemistry (Moscow)*. 2018; 83 (1): 13–25.
12. Jackson D.J., Gangnon R.E., Evans M.D., Roberg K.A., et al. Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2008; 178 (7): 667–72.
13. Jackson D.J., Johnston S.L. The role of viruses in acute exacerbations of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125 (6): 1178–87.
14. Plaza V., Ramos-Barbón D., Muñoz A.M., Fortuna A.M., et al. Exhaled nitric oxide fraction as an add-on to ACQ-7 for not well controlled asthma detection. *PLoS One*. 2013; 25 (10): e77085.
15. Makrinioti H., Toussaint M., Jackson D.J., Walton R.P., et al. Role of interleukin 33 in respiratory allergy and asthma. *Lancet Respir. Med* 2014; 2 (3): 226–37.
16. Xia J., Zhao J.L., Shang J., Li M., et al. Increased IL-33 expression in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2015; 308 (7): L619–27.
17. Furukawa S., Moriyama M., Miyake K., Nakashima H., et al. Interleukin-33 produced by M2 macrophages and other immune cells contributes to Th2 immune reaction of IgG4-related disease. *Sci. Rep* 2017; 7 (42413): 1–10.
18. Nile C.J., Barksby E., Jitprasertwong P., Preshaw P.M., et al. Expression and regulation of interleukin-33 in human monocytes. *Immunology*. 2010; 130 (2): 172–80.
19. Khaitov M.R., Shilovskiy I.P., Nikonova A.A., Shershakova N.N., et al. Small interfering RNAs targeted to interleukin-4 and respiratory syncytial virus reduce airway inflammation in a mouse model of virus-induced asthma exacerbation. *Hum. Gene Ther.* 2014; 25 (7): 642–50.
20. Pecaric-Petkovic T., Didichenko S.A., Kaempfer S., Spiegl N., et al. Human basophils and eosinophils are the direct target leukocytes of the novel IL-1 family member IL-33. *Blood* 2009; 113 (7): 1526–34.
21. Galitskaya M.A., Shilovskiy I.P., Nikonova A.A., Gaisina A.R., et al. Increased il-33 expression in atopic bronchial asthma patients with confirmed viral respiratory infection. *Allergy*. 2018; 73 (105): 298.
22. Newcomb D.C., Peebles R.S. Jr. Bugs and asthma: a different disease? *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2009; 6 (3): 266–71.
23. Dyneva M., Kurbacheva O., Shilovskiy I., Kovchina V., et al. Analysis of the expression of Th-1, Th-2, Th-17 cytokines in patients with allergic and non- allergic bronchial asthma associated with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergy*. 2019; 74 (106): PD0361.