

УДК 616.248:616-008.854/855:612.014.462.1

DOI: 10.12737/21434

## ВЛИЯНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНОГО КОМПОНЕНТА БРОНХИАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ НА УРОВЕНЬ КОНТРОЛЯ БОЛЕЗНИ И ФУНКЦИЮ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

А.Б.Пирогов<sup>1</sup>, А.Г.Приходько<sup>1</sup>, Ю.М.Перельман<sup>1</sup>, С.В.Зиновьев<sup>2</sup><sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22<sup>2</sup>Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Благовещенск, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

### РЕЗЮМЕ

Клеточный паттерн воспалительного инфильтрата бронхов при бронхиальной астме (БА) оказывает существенное влияние на течение болезни и может влиять на достижение и поддержание контроля болезни. До настоящего времени остаётся неразрешённой проблема взаимоотношений между уровнем контроля, профилем полиморфноядерных лейкоцитов воспалительного инфильтрата бронхов и реактивностью дыхательных путей у больных БА. Цель работы заключалась в изучении влияния нейтрофильного компонента воспалительного паттерна бронхов на уровень контроля болезни, функцию внешнего дыхания и реактивность дыхательных путей у больных БА. У 114 больных персистирующей БА смешанной формы, легкого течения оценивались уровень контроля болезни; базовые значения функции внешнего дыхания (ОФВ<sub>1</sub>) при стандартной спирометрии; реактивность дыхательных путей (ΔОФВ<sub>1</sub>) при проведении бронхопровокационных проб: с 3-минутной изокапнической гипервентиляцией холодным (-20°C) воздухом (ИГХВ) и 3-минутной ультразвуковой ингаляцией дистиллированной воды (ИДВ); исследовался клеточный состав индуцированной мокроты (ИМ). По результатам цитологического исследования больные распределены в группы с низким содержанием нейтрофилов в ИМ (39 человек; 1 группа), с повышенным содержанием нейтрофилов в ИМ (75 человек, 2 группа). По результатам Asthma Control Test хуже контролировали свое заболевание лица 2 группы в отличие от пациентов 1 группы (15,0±0,6 и 19,0±0,8 баллов, соответственно; p=0,0001), они имели достоверно более низкие базовые значения ОФВ<sub>1</sub> (88,0±2,0 и 96,7±2,4%, соответственно; p=0,009) и существенно более выраженную реакцию на ИГХВ и ДВ (ΔОФВ<sub>1</sub> -13,7±1,7 и -11,2±1,9%, соответственно), относительно лиц 1 группы (-2,7±0,86%; p=0,0001 и -5,3±1,90%; p=0,055). У больных 2 группы была обнаружена тесная связь между исходно высоким содержанием нейтрофилов в ИМ и последующей значимой реакцией бронхов в ответ на ИГХВ, для ΔОФВ<sub>1</sub> (r=-0,22; p=0,045); ΔМОС<sub>25-75</sub> (r=-0,29; p=0,009), а также содержанием миелопероксидазы в ИМ (r=0,31; p=0,0008). В тоже время у этих боль-

ных высокий уровень миелопероксидазы в ИМ был ответственен за последующую реакцию бронхов на ИДВ ΔОФВ<sub>1</sub> (r=0,29; p=0,030). Таким образом, увеличение нейтрофильного компонента воспаления у больных БА, влекущее за собой морфологические и цитохимические преобразования бронхиального секрета, усугубляет клиническое течение болезни, что сопровождается снижением контроля над заболеванием, ухудшением бронхиальной проходимости и усилением реактивности дыхательных путей в ответ на экзогенные стимулы.

*Ключевые слова:* бронхиальная астма, гиперреактивность дыхательных путей к гипосомолярному и холодному стимулам, паттерн воспаления бронхов, нейтрофильные лейкоциты, миелопероксидаза, функция внешнего дыхания, уровень контроля астмы.

### SUMMARY

#### INFLUENCE OF NEUTROPHILIC COMPONENT OF BRONCHIAL INFLAMMATION ON THE LEVEL OF DISEASE CONTROL AND LUNG FUNCTION IN PATIENTS WITH ASTHMA

А.Б. Pirogov<sup>1</sup>, А.Г. Prikhodko<sup>1</sup>, J.M. Perelman<sup>1</sup>, S.V. Zinov'ev<sup>2</sup><sup>1</sup>Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation<sup>2</sup>Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

The cell pattern of bronchi inflammatory infiltrate has a significant impact on the course of the disease and may affect the achievement and maintenance of the asthma control. The aim of the study was to determine the influence of neutrophilic component of the bronchial inflammation on the asthma control, lung function and airway responsiveness. 114 patients with mild persistent asthma were assessed upon the level of the asthma control by Asthma Control Test (ACT); lung function (FEV<sub>1</sub>) by spirometry; airway responsiveness (ΔFEV<sub>1</sub>) to 3-minute isocapnic hyperventilation with cold air (-20°C) (IHCA) and 3-minute ultrasound inhalation with distilled water (IDW). The cell composition of the induced sputum (IS) was also studied. The patients were divided into groups with low contents of neutrophils in IS (39 people; 1<sup>st</sup> group) and with high

contents of neutrophils (75 people, 2<sup>nd</sup> group). The contents of neutrophils in the 1<sup>st</sup> group was  $10.9 \pm 0.53\%$ , eosinophils –  $19.4 \pm 2.1\%$ ; in the 2<sup>nd</sup> group –  $29.9 \pm 1.6\%$  ( $p=0.0001$ ) and  $20.4 \pm 1.4\%$  ( $p=0.66$ ), respectively. By ACT data the people of the 2<sup>nd</sup> group managed their disease worse than in 1<sup>st</sup> group ( $15.0 \pm 0.6$  and  $19.0 \pm 0.8$  points, respectively;  $p=0.0001$ ). They also had lower  $FEV_1$  ( $88.0 \pm 2.0$  and  $96.7 \pm 2.4\%$ ;  $p=0.009$ ) and more intensive airway response to IHCA and DW ( $-13.7 \pm 1.7\%$  and  $-11.2 \pm 1.9\%$ , respectively) in comparison with the 1<sup>st</sup> group ( $-2.7 \pm 0.86\%$ ;  $p=0.0001$  and  $-5.3 \pm 1.90\%$ ;  $p=0.055$ ). The patients of the 2<sup>nd</sup> group had a close correlation between baseline neutrophils in IS and  $\Delta FEV_1$  in response to IHCA ( $r=-0.22$ ;  $p=0.045$ ) as well as the content of myeloperoxidase in IS ( $r=0.31$ ;  $p=0.0008$ ). A level of myeloperoxidase in IS correlated with  $\Delta FEV_1$  in response to IDW ( $r=0.29$ ;  $p=0.030$ ) in these patients. The increase of neutrophilic component of inflammation in asthma patients worsens the asthma control, lung function and enhances airway responsiveness to exogenous stimuli.

*Key words:* asthma, airway hyperresponsiveness to hypomolar and cold stimuli, bronchi inflammatory pattern, neutrophilic leukocytes, myeloperoxidase, lung function, level of asthma control.

Отмечаемое в сложных условиях современной экологии снижение контроля бронхиальной астмы (БА) обусловлено развитием гиперреактивности дыхательных путей, в том числе к воздействию неблагоприятных климатических факторов, в частности, сочетанию высокой влажности и низких температур воздуха [12, 20, 21]. Холодиндуцированный и осмоиндуцированный виды гиперреактивности бронхов имеют не только схожий молекулярно-генетический механизм развития, в основе которого находится опосредующее осмо- и терморцепцию подсемейство каналов с транзитным рецепторным потенциалом TRP: TRPM8, TRPV1, TRPV4 и, предположительно, TRPV2 [21, 26, 36], принимающих участие в широком спектре провоспалительных биологических эффектов респираторного тракта [21, 26, 33], но и общие черты в структуре паттерна воспаления бронхов. Так, ранее нами было показано, что у больных БА с гиперреактивностью дыхательных путей к холодовому и осмотическому стимулам бронхиальный инфильтрат содержит, наряду с эозинофильным, значительный нейтрофильный компонент [14, 17, 20, 22, 28, 29, 31, 34], а его функциональный статус в значительной мере определяется активностью миелопероксидазы (МПО) – лизосомального фермента гранулоцитов, депонированного в цитоплазматических азурофильных гранулах [13, 15, 16, 18, 19, 35]. Экзоцитоз флогогенных агентов, в том числе лизосомальных ферментов, из гранулоцитов в окружающую среду и прогрессирование воспаления связаны с деструкцией клеток [9], негативно влияющей на достижение и поддержание контролируемого течения БА [13].

До настоящего времени остаётся до конца не решённой проблема взаимоотношений между уровнем

контроля, профилем полиморфноядерных лейкоцитов воспалительного инфильтрата бронхов и реактивностью дыхательных путей у больных БА. Она нуждается в решении на основании комплексного анализа данных клинического, патофизиологического, а также патоморфологического исследований, включая характеристику архитектоники и функционального состояния не только эозинофилов – наиболее значимых в патогенезе астмы гранулоцитов, но и нейтрофилов, как ведущих эффекторов воспаления.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния нейтрофильного компонента воспалительного паттерна бронхов на уровень контроля астмы, функцию внешнего дыхания и реактивность дыхательных путей у больных БА.

### Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие 114 больных, в возрасте от 22 до 60 лет ( $41,0 \pm 0,9$  года), обоего пола (71 женщина, 43 мужчины), с легким персистирующим, частично контролируемым и неконтролируемым течением БА в соответствии с GINA [29]. Критериями включения пациента в исследование служило отсутствие общих противопоказаний для проведения функциональных и лабораторных процедур, тяжёлой сопутствующей патологии других органов и систем, объём форсированного выдоха за 1-ю секунду ( $ОФВ_1$ )  $>75\%$  от должного значения. Во избежание влияния циркадных ритмов на результаты, обследования проводились в первую половину дня. Пациенты подписывали информированное согласие на участие в клиническом исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания.

Дизайн работы предполагал обследование, которое включало анализ клинических симптомов астмы; оценку уровня контроля заболевания по данным валидизированного вопросника Asthma Control Test (ACT); базовую оценку вентиляционной функции легких с анализом параметров кривой «поток–объем» форсированного выдоха с помощью спирометрии на аппарате Easy on-PC (niddMedizintechnik AG, Швейцария). Обратимость обструкции дыхательных путей оценивали спустя 15 минут после ингаляции 200 мкг сальбутамола, реактивность дыхательных путей ( $\Delta OFV_1$ ) – при проведении бронхопровокационных проб: 3-минутной изокапнической гипервентиляции холодным ( $-20^\circ\text{C}$ ) воздухом (ИГХВ), 3-минутной ультразвуковой ингаляцией дистиллированной воды (ИДВ) [20].

Сбор индуцированной мокроты (ИМ) осуществляли по стандартной методике под спирометрическим контролем [27]. Цитологическое исследование ИМ проводили не позднее 2 часов после её получения. Исследование микропрепаратов ИМ проводили по общепринятой методике [30] при помощи светооптической иммерсионной микроскопии с подсчетом не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в центральных и периферических частях мазка. Предварительно отбирался мате-

риал с минимальным уровнем контаминации плоско-клеточным эпителием (менее 20% плоских эпителиоцитов от всех клеток). Подсчитанное количество нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов, макрофагов, лимфоцитов и клеток бронхиального эпителия выражали в процентах.

Для цитохимического исследования активности МПО нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов ИМ использовали метод Грэхема-Кнолля [25]. Мазки ИМ докрашивали после обработки бензидином и перекисью водорода водным раствором азура-2, переводили изображения микропрепаратов в цифровую форму, подвергали клетки цифровой обработке и рассчитывали на основании полученных данных оптической плотности фермента в исследуемых клетках средний цитохимический коэффициент (СЦК) МПО (в пикселях) [13,16,18,19].

Степень и интенсивность процессов деструкции в нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитах определяли по методу Л.А.Матвеевой [7], описанному ранее [18, 19]. Степень повреждения клеток вычисляли с помощью суммарного индекса деструкции клеток (ИДК). Индекс цитолиза клеток (ИЦК) рассчитывали как отношение наиболее разрушенных клеток к содержанию остальных поврежденных клеток. По отношению индекса деструкции клеток к индексу их цитолиза (ИДК/ИЦК) оценивалась интенсивность цитолиза клеток [18, 19].

Статистический анализ полученного материала

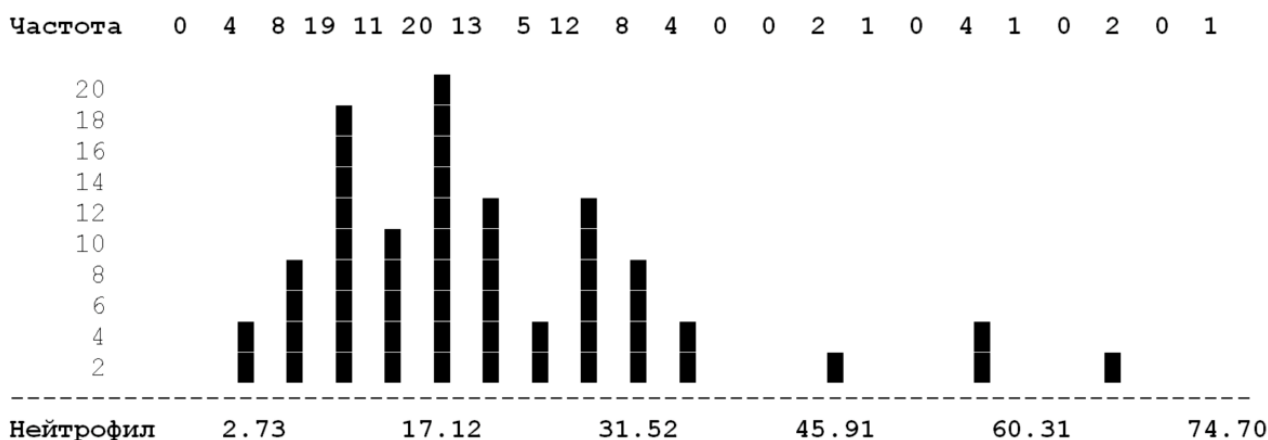


Рис. 1. Гистограмма распределения показателя (нейтрофилов, в %) по частоте встречаемости значений в ИМ у больных БА.

При анализе цитогрaмм ИМ мы не нашли достоверных межгрупповых различий в процентном содержании эозинофилов, лимфоцитов и эпителиоцитов (рис. 2). Что касается воспалительных клеток моноцитарного ряда, то количество макрофагов во 2 группе достоверно уступало числу клеток в 1 группе. СЦК МПО гранулоцитов ИМ имел тенденцию к повышению у больных 2 группы по сравнению с 1 группой (84,8±4,6 и 75,9±5,0 пикселей, соответственно; p=0,22), что могло свидетельствовать о более высоком накоплении в гранулах цитоплазмы синтезируемого клетками фермента у лиц с повышенным содержанием нейтрофилов в ИМ. Это подтверждалось и тесной корреляционной

проводился на основе стандартных методов вариационной статистики. Для определения достоверности различий использовали непарный критерий t (Стьюдента), в случаях негауссовых распределений использовались непараметрические критерии Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами проводили корреляционный анализ, рассчитывали коэффициент корреляции (r).

**Результаты исследования и их обсуждение**

При исследовании клеточного состава ИМ у больных БА обнаружена высокая вариабельность содержания нейтрофилов, с разбросом значений в пределах 3-75% (рис. 1). Для распределения пациентов в группы с высоким и нормальным содержанием нейтрофилов в ИМ рассчитывалась нижняя граница допустимой нормы (НГН) по формуле: НГН=M+2SD, где M – среднее значение, SD – стандартное (среднеквадратичное) отклонение данного показателя у здоровых лиц. НГН по факту составила 16,5%.

В дальнейшем, используя критерий НГН, по содержанию нейтрофильных лейкоцитов в ИМ больные БА были объединены в две группы: в 1 группу вошли 39 больных, у которых число нейтрофилов ИМ не превышало НГН (10,9±0,53%), во 2 группу – 75 пациентов с количеством нейтрофилов, превысившим НГН (29,9±1,6%; p=0,0001).

связью между количеством нейтрофилов в ИМ и СЦК МПО (r=0,31; p=0,0008). Статистически достоверных различий между цитоморфологическими параметрами деструкции и интенсивности цитолиза эозинофилов и нейтрофилов в исследуемых группах обнаружено не было. Так, ИДК эозинофилов для 1 и 2 групп составил 0,40 (0,30; 0,50) и 0,40 (0,40; 0,50), соответственно, ИДК нейтрофилов – 0,50 (0,40; 0,60) и 0,40 (0,40; 0,50), соответственно, p=0,305; ИЦК эозинофилов варьировала в пределах 0,45 (0,20; 0,60) и 0,40 (0,20; 0,50), соответственно, p=0,780; ИЦК нейтрофилов – 0,40 (0,30; 0,80) и 0,43 (0,30; 0,55), соответственно, p=0,535.

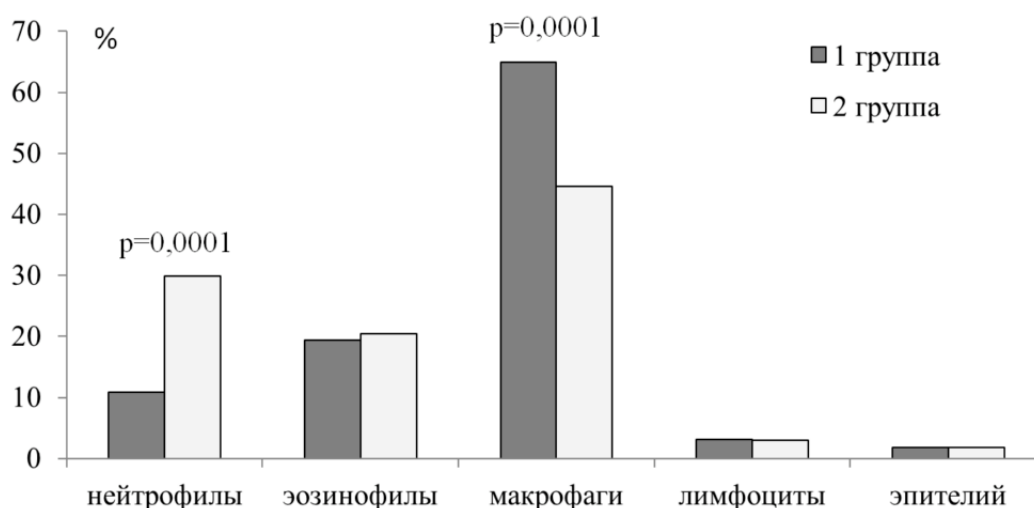


Рис. 2. Клеточный состав индуцированной мокроты (в %).

Ретроспективный анализ клинических симптомов заболевания (по результатам АСТ) показал (табл.), что из общей совокупности обследованных лиц за последние 4 недели только 30% больным удалось хорошо контролировать БА (АСТ>20 баллов), у 70% больных наблюдался низкий контроль (АСТ≤20 баллов). При этом во 2 группе доля лиц с неконтролируемым течением БА составила 79%, тогда как в 1 группе – 52% ( $\chi^2=5,25$ ;  $p<0,01$ ). Больные 2 группы имели достоверно более низкие базовые значения вентиляционной функции легких и существенно более высокий прирост ОФВ<sub>1</sub> в пробе с сальбутамолом.

Оценивая реакцию дыхательных путей при проведении бронхопровокационных проб, мы обратили внимание на то, что больные с высоким содержанием нейтрофилов в ИМ оказались более подвержены воздействию таких триггеров, как холодный воздух и ин-

галяция дистиллированной воды. По данным индивидуального анализа, 67% больных 2 группы реагировали на пробу ИГХВ и 52% – на аэрозольную ингаляцию дистиллированной воды существенным снижением проходимости дыхательных путей, тогда как у пациентов 1 группы реактивность дыхательных путей на холодное воздействие встречалась в 18% случаев ( $\chi^2=8,597$ ;  $p<0,001$ ), на ИДВ – в 28% ( $\chi^2=4,37$ ;  $p<0,05$ ). Кроме того, у больных 2 группы нами была обнаружена тесная связь между исходно высоким содержанием нейтрофилов в ИМ и реакцией бронхов в ответ на 3-минутную провокацию холодным воздухом: для  $\Delta$ ОФВ<sub>1</sub>  $r=-0,22$  ( $p=0,045$ ); для  $\Delta$ МОС<sub>25-75</sub>  $r=-0,29$  ( $p=0,009$ ). В тоже время, у этих больных высокий уровень СЦК МПО в ИМ был ответственен за последующую реакцию бронхов на ИДВ  $\Delta$ ОФВ<sub>1</sub> ( $r=0,29$ ;  $p=0,030$ ).

Таблица

Клинико-функциональная характеристика больных БА (M±m)

Показатель	1 группа	2 группа	p
АСТ, баллы	19,0±0,8	15,0±0,6	p=0,0001
ОФВ <sub>1</sub> , % долж.	96,7±2,4	88,0±2,0	p=0,009
ОФВ <sub>1</sub> /ЖЕЛ	0,76±0,01	0,71±0,01	p=0,003
МОС <sub>25-75</sub> , % долж.	74,6±3,9	59,5±2,5	p=0,0009
$\Delta$ ОФВ <sub>1</sub> , % беротек	7,1±1,4	11,7±1,6	p=0,050
$\Delta$ ОФВ <sub>1</sub> , % ИГХВ	-2,7±0,86	-13,7±1,7	p=0,0001
$\Delta$ ОФВ <sub>1</sub> , % ИДВ	-5,3±1,90	-11,2±1,9	p=0,055

Как следует из представленных данных, индукция и поддержание воспаления, препятствующие достижению контроля над болезнью, связанные с нейтрофильным звеном бронхиального инфильтрата. Результаты представленных исследований согласуются с данными литературы, в которых было показано, что нейтрофильный тип воспаления бронхов коррелирует с системным воспалением при БА. Клинические результаты лечения больных с нейтрофильным фено-

типом воспаления оказываются хуже [37].

Иницирующим механизмом воспаления со стороны нейтрофилов выступает респираторный взрыв, сопровождаемый высвобождением из цитоплазмы МПО, резервы которой доминируют в лейкоцитах ИМ больных 2 группы. МПО при взаимодействии с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> катализирует продукцию высоко реакционноспособных галогенсодержащих соединений, модифицирующих функциональные группы белков, липидов,



гликопротеинов, нуклеиновых кислот и других жизненно важных молекул [10, 11]. Благодаря биологической конструкции МПО–H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> происходит конвертация оксидативного стресса в галогенирующий с образованием, помимо активных форм кислорода (АФК), активных форм галогенов (АФГ) и усугублением воспалительного повреждения тканей [10,11,32]. Аналогично действию АФК и всего спектра оксидантов, ионизированная форма HOCl (гипохлорит) – главный среди АФГ предшественник свободных радикалов – изменяет активность ядерного транскрипционного фактора NF-κB с последующей стимуляцией экспрессии генов провоспалительных цитокинов [30], что вызывает развитие респираторного взрыва в нейтрофилах, индуцирует фагоцитоз, дегрануляцию лейкоцитов, продукцию и секрецию лизосомальных ферментов, лейкотриенов, свободных радикалов [23, 24].

IL-1, IL-6, GM-CSF, TNF и другие цитокины Th1-типа стимулируют рост и дифференцировку ранних и поздних гранулоцитарных предшественников, формирование нейтрофильных колоний в культуре кроветворных клеток, способствуют мобилизации нейтрофилов из костного мозга, тем самым увеличивая пул циркулирующих нейтрофилов и миграцию лейкоцитов в очаг воспаления [1, 24]. Наиболее вероятно, что нейтрофилы ИМ пациентов 2 группы обладают большей способностью к самоподдержанию как количества, так и напряженной функциональной активности, связанной с синтезом и депонированием МПО. Такое предположение подтверждается данными о продукции нейтрофилами «самостимулирующих» цитокинов, потенцирующих максимальное раскрытие эффекторных возможностей клеток [8]. Собственный праймирующий ресурс респираторного взрыва нейтрофилов в этом случае следует рассматривать в качестве индуктора персистенции воспаления, это позволяет говорить о том, что высокий количественный показатель нейтрофилов в ИМ может служить критерием неблагоприятного течения болезни и одним из маркеров контроля БА.

Следующим негативным фактором, влияющим на контролируемое течение БА, является деструкция лейкоцитов [13], отражающая общебиологические закономерности динамики их функциональной активности [5]. Интенсивные процессы цитолиза и деструкции как результат стимулированной функциональной активности клетки ассоциированы с прогрессирующей воспалительной альтерацией, приводящей к лизису клеточной мембраны, изоляции и некрозу клетки [9]. Известно, что при астме в гранулоцитах наблюдается IL-5-зависимое увеличение экспрессии генов bcl-2, обуславливающее супрессию апоптоза, пролонгацию повреждающей активности гранулоцитов и увеличение доли некротически гибнущих клеток [2, 3]. Немаловажно, что у больных БА с более выраженной реакцией бронхов на ингаляцию дистиллированной водой и гипервентиляцию холодным воздухом уровень регулятора апоптоза и некроза клеток IL-5 в конденсате вы-

дыхаемого воздуха повышается [22].

Регулирующие апоптоз антиапоптозные факторы образуются в очаге воспаления, между тем как в межмембранном пространстве митохондрий нейтрофилов содержатся проапоптозные белки, проникающие при апоптозе в цитозоль [4]. По данным литературы, при заболеваниях бронхолегочной системы самым уязвимым звеном в патогенезе повреждения субклеточных структур являются мембраны митохондрий; изменения в митохондриях вызывают нарушения в них процессов биологического окисления и клеточного дыхания, приводят к снижению интенсивности энергетического обмена, дефициту АТФ и развитию деструкции в других органеллах и клетке в целом [5]. Снижение способности нейтрофилов к апоптозу коррелирует с деструкцией митохондриальных крист и свидетельствует о процессах дезэнергизации клеток [4, 5], при этом у больных БА отмечается двукратное (в 2,1 раза по сравнению с контролем) увеличение пула низко энергообеспеченных клеток, характеризующихся разрушением крист и наружной мембраны митохондрий [5]. Одновременно с этим привлекает внимание и факт активации лизосомальных ферментов при бронхолегочных заболеваниях. Так, при БА активность кислой фосфатазы нейтрофилов повышается на 22,0% ( $p < 0,05$ ) [4], что стимулирует цитолиз и разрушение клеток. Подобное агрессивное воздействие на нейтрофилы логично ожидать и от эффектов усиленно продуцируемой гранулоцитами МПО.

Как следует из результатов анализа, эозинофилы и нейтрофилы ИМ пациентов обеих групп в равной степени подвергались деструктивно-цитолитическим и последующим некротическим изменениям. С учетом того, что продукция и депонирование МПО превалировали в гранулоцитах ИМ больных 2 группы и, следовательно, потребность в выбросе фермента из клеток была выше, можно предположить вариант реализации данной потребности за счёт альтернативного пути гибели нейтрофилов – нетоза. Стимулируемый АФК нетоз (NETosis, кислородзависимая клеточная гибель) представляет собой процесс контролируемого высвобождения внутриклеточных компонентов с целью получения «нейтрофильных внеклеточных ловушек» (Neutrophil Extracellular Traps, NETs, НВЛ) [6, 28]. Свойства нетоза заключаются в распаде оболочки ядра на множество пузырьков на начальном этапе и образовании сетеподобных структур, состоящих из деконденсированного хроматина (нити ДНК, гистоны), разрушенных органелл, белков, ферментсодержащих гранул, в том числе с миелопероксидазной активностью, на заключительном этапе. Высокоактивная смесь клеточного содержимого, попав во внеклеточное пространство, формирует объемные сети – «ловушки», важный инструмент фагоцитоза, элиминации патогенов и воспаления [6, 28]. Не исключено, что НВЛ, не дифференцируемые в мазках ИМ при обычной светоптической микроскопии, потенцируют посредством альтернативной цитолизу и некрозу гибели нейтрофилов воспалительную активность в инфильтрате боль-

ных 2 группы.

Если взаимосвязь клеточного цитолиза, деструкции, некроза и нетоза, способствующих эскалации оксидативного стресса и бронхиального воспаления, требует дальнейшего изучения, то показатели количества нейтрофилов и концентрация внутриклеточной МПО у больных уже сегодня могут рассматриваться как факторы влияния на проходимость бронхов и реактивность дыхательных путей к экзогенным триггерам, уровень контроля над БА. Утверждение о том, что гиперреактивность дыхательных путей и снижение уровня контроля над астмой у таких пациентов сопровождается признаками морфофункциональной активации нейтрофильного воспалительного компонента, находит подтверждение в найденных корреляциях.

Таким образом, увеличение нейтрофильного компонента воспаления у больных БА, влекущее за собой морфологические и цитохимические преобразования бронхиального секрета, усугубляет клиническое течение болезни, что сопровождается снижением контроля над заболеванием, ухудшением бронхиальной проходимости и усилением реактивности дыхательных путей в ответ на экзогенные стимулы.

*Исследование поддержано Российским научным фондом (грант №14-25-00019).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Иванчук И.И., Сазонов А.Э., Петровский Ф.И., Лещева И.С., Копьева А.П., Петрова И.В. Роль интерлейкина-5 в механизмах апоптотической гибели эозинофилов периферической крови больных бронхиальной астмой // Бюллетень Сибирской медицины. 2003. №2. С.38–43.
3. Иванчук И.И., Огородова Л.М., Сазонов Э.А., Лещева И.С., Копьева А.П., Петрова И.В., Малышев И.Ю. Влияние рекомбинантного интерлейкина-5 на апоптотическую гибель эозинофилов периферической крови больных бронхиальной астмой // Медицинская иммунология. 2004. Т.6, №1-2. С.117–120.
4. Киселева Р.Е., Федотова Г.Г. Апоптоз и его роль в ответе нейтрофилов // Современные наукоемкие технологии. 2005. №8. С.75–76.
5. Киселева Р.Е., Федотова Г.Г. Деструктивные изменения в лейкоцитах при бронхолегочной патологии // Современные наукоемкие технологии. 2007. №1. С.81–82.
6. Коротина О.Л., Генералов И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2012. №4. С.23–32.
7. Матвеева Л.А. Местная защита респираторного тракта у детей. Томск: изд-во Том. ун-та, 1993. 276 с.
8. Маянский А.Н. НАДФ-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция // Цитокины и воспаление. 2007. Т.6, №3. С.3–13.
9. Невзорова В.А., Пазыч С.А., Бархагова Д.А., Кудрявцева В.А. Роль процессов клеточной гибели в развитии воспаления при бронхиальной астме // Тихоокеанский медицинский журнал. 2006. №2. Р.54–58.
10. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры // Вестник Российской АМН. 2010. №1. С.27–39.
11. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // Успехи биологической химии. 2013. Т.53. С.195–244.
12. Перельман Ю.М., Колосов В.П., Приходько А.Г. Влияние климатических факторов на формирование и течение хронической обструктивной болезни легких // Хроническая обструктивная болезнь легких / под ред. А.Г.Чучалина. М.: Атмосфера, 2008. С.61–81.
13. Пирогов А.Б., Зиновьев С.В., Перельман Ю.М., Семиреч Ю.О., Семенова Г.В., Колосов А.В. Активность миелопероксидазы нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов индуцированной мокроты у больных бронхиальной астмой с холодовой бронхиальной гиперреактивностью // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.53. С.50–56.
14. Пирогов А.Б., Зиновьев С.В., Приходько А.Г., Семенова Г.В., Ушакова Е.В. Клеточные биомаркеры бронхиального воспаления в оценке достижения эффективности контроля у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей // Материалы VI Съезда врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока / под общ. ред. чл.-корр. РАН В.П.Колосова. Благовещенск, 2015. С.14–18.
15. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев, С.В. Ушакова Е.В., Афанасьева Е.Ю. Роль миелопероксидазы лейкоцитов бронхов в формировании осмотической гиперреактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой // Материалы VI Съезда врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока / под общ. ред. чл.-корр. РАН В.П.Колосова. Благовещенск, 2015. С.18–21.
16. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Ушакова Е.В., Макарова Г.А., Наумов Д.Е. Клеточный профиль индуцированной мокроты, уровень миелопероксидазы и нейтрофильной эластазы крови у больных бронхиальной астмой с гиперреактивностью дыхательных путей на гипоосмолярный стимул // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2015. Вып.57. С.8–14.
17. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В., Афанасьева Е.Ю. Фенотипические особенности воспаления бронхов у больных бронхиальной астмой с различными типами реакции дыхательных путей на гипоосмолярный и холодовой стимулы // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2015. Вып.58. С.8–14.
18. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В., Наумов Д.Е., Афанасьева Е.Ю. Воспалительно-клеточный состав индуцированной мокроты у больных бронхиальной астмой с разными типами ре-

акции дыхательных путей на гиперосмолярный стимул // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2016. Вып.59. С.8–15.

19. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В., Афанасьева Е.Ю., Колосов В.П. Воспалительный паттерн слизистой оболочки бронхов у больных бронхиальной астмой с гиперреактивностью дыхательных путей на гипоосмолярный стимул // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. Т.161, №4. С.542–546.

20. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с.

21. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П., Ульянычев Н.В., Нарышкина С.В., Афанасьева Е.Ю. Особенности течения бронхиальной астмы у больных с изолированной и сочетанной реактивностью дыхательных путей на холодовой и гипоосмолярный стимулы // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.53. С.36–41.

22. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Пирогов А.Б., Бородин Е.А., Ушакова Е.В., Ульянычев Н.В., Колосов А.В. Фенотипические различия и особенности воспаления у больных бронхиальной астмой с изолированной и сочетанной реакцией дыхательных путей на холодный воздух и дистиллированную воду // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.54. С.8–16.

23. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение 1) // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2008. Т.81, №6. С.5–8.

24. Титов В.Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. 2003. №12. С.3–10.

25. Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия: пер. с англ. / под ред. Н.С.Кисляк. М.: Медицина, 1983. 318 с.

26. Alenmyr L., Herrmann A., Högestätt E.D., Greiff L., Zygmunt P.M. TRPV1 and TRPA1 stimulation induces MUC5B secretion in the human nasal airway in vivo // Clin. Physiol. Funct. Imaging. 2011. Vol.31, №6. P.435–444.

27. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: from bench to bedside // Curr. Med. Chem. 2011. Vol.18, №10. P.1415–1422.

28. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs // Nat. Rev. Microbiol. 2007. Vol.5, №8. P.577–582.

29. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2016). URL: <http://www.ginasthma.com>.

30. Jin Y.-S., Park K.-K., Park J.-Y., Kim M.J., Lee W.-L., Kim H.-Y., Lee H.-J., Park E.-K. Effects of exercise induced oxidative stress and antioxidant supplementation on NF- $\kappa$ B activation in peripheral mononuclear cells // Korean J. Sports Med. 2000. Vol.18, №2. P.261–270.

31. Kolosov V.P., Pirogov A.B., Zinov'ev S.V., Prikhodko A.G., Perelman J.M. Phenotyping of the induced sputum of patients with asthma and concomitant airway hyperresponsiveness to hypoosmolar stimulus // Respirology. 2015. Vol.20, Suppl.3. P.14.

32. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe // J. Leukoc. Biol. 2005. Vol.77, №5. P.598–625.

33. Li M.C., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism // J. Allergy Clin. Immunol. 2011. Vol.128, №3. P.626–634.

34. Maltseva T.A., Pirogov A.B., Kolosov V.P., Naryshkina S.V., Ushakova E.V. Cell composition of induced sputum in patients with uncontrolled asthma and its participation in the formation of cold hyperresponsiveness // Eur. Respir. J. 2013. Vol.42, Suppl.57. P.2022.

35. Perelman J.M., Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Zinoviev S.V., Kolosov V.P., Maltseva T.A. Myeloperoxidase of bronchial leucocytes as a biomarker of osmotic bronchial hyperresponsiveness in asthmatics // Eur. Respir. J. 2015. Vol.46, Suppl.59. P.A3872.

36. Taylor-Clark T.E., Undem B.J. Transduction mechanisms in airway sensory nerves // J. Appl. Physiol. 2006. Vol.101, №3. P.950–959.

37. Wood L.G., Baines K.I., Fu J., Scott H.A., Gibson P.G. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma // Chest. 2012. Vol.142, №1. P.86–93.

## REFERENCES

1. Vasil'eva G.I., Ivanova I.A., Tyukavkina S.Yu. The cooperative interaction of mono- and polinuclear phagocytes, mediated by mono- and neutrophilokins. *Immunologiya* 2000; 21(5):11–17.

2. Ivanchuk I.I., Sazonov A.E., Petrovskiy F.I., Leshcheva I.S., Kop'eva A.P., Petrova I.V. The role of IL-5 in the mechanisms of apoptosis of peripheral blood eosinophils of patients with bronchial asthma. *Byulleten' Sibirskoy meditsiny* 2003; 2:38–43 (in Russian).

3. Ivanchuk L.I., Ogorodova L.M., Sazonov A.E., Leshcheva I.S., Koljeva A.P., Petrova I.V., Malyshev I.Yu. The influence of recombinant interleukin-5 on eosinophil apoptosis in patients with bronchial asthma. *Meditsinskaya immunologiya* 2004; 6 (1-2):117–120 (in Russian).

4. Kiseleva R.E., Fedotova G.G. Apoptosis and its role in the response of neutrophils. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii* 2005; 8:75–76 (in Russian).

5. Kiseleva R.E., Fedotova G.G. Destructive changes in the white blood cells in bronchopulmonary pathology. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii* 2007; 1:81–82 (in Russian).

6. Korotina O.L., Generalov I.I. Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation, functions. *Immunopathology, allergology, infectology* 2012; 4:23–32 (in Russian).

7. Matveeva L.A. Local protection of the respiratory tract in children. Tomsk; 1993 (in Russian).



8. Mayansky A.N. NADPH-oxidase of neutrophils: activation and regulation. *Tsitokiny i vospalenie* 2007; 6(3):3–13 (in Russian).
9. Nevzorova V.A., Pazych S.A., Barkhatova D.A., Kudryavtseva V.A. The role of process cell death in course of inflammation under bronchial asthma. *Pacific Medical Journal* 2006; (2):54–58 (in Russian).
10. Panasenko O.M., Sergienko V.I. Halogenizing stress and its biomarkers. *Annals of the Russian Academy of Medical Science* 2010; (1):27–39 (in Russian).
11. Panasenko O.M., Gorudko I.V., Sokolov A.V. Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems. *Uspekhi biologicheskoy khimii* 2013; 53:195–244 (in Russian).
12. Perelman J.M., Kolosov V.P., Prikhodko A.G. The influence of climatic factors on the formation and course of chronic obstructive pulmonary disease. In: Chuchalin A.G., editor. *Chronic obstructive pulmonary disease*. Moscow: Atmosfera; 2008. pp.61–68 (in Russian).
13. Pirogov A.B., Zinov'ev S.V., Perelman J.M., Semirech Yu.O., Semenova G.V., Kolosov A.V. Myeloperoxidase activity of neutrophils and eosinophils in induced sputum of patients with bronchial asthma with cold bronchial hyperresponsiveness. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2014; (53):50–56 (in Russian).
14. Pirogov A.B., Zinov'ev S.V., Prikhodko A.G., Semenova G.V., Ushakova E.V. Cellular biomarkers of bronchial inflammation in assessing the achievement of efficiency control in patients with bronchial asthma with cold airway hyperresponsiveness. In: *Proceedings of the VI conference of pulmonologists of Siberia and Far East*. Blagoveshchensk; 2015: 14–18 (in Russian).
15. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman Yu.M., Zinov'ev, S.V. Ushakova E.V., Afanas'eva E.Yu. The role of myeloperoxidase in white blood cells of the bronchi in the formation of osmotic airway hyperresponsiveness in patients with asthma. In: *Proceedings of the VI conference of pulmonologists of Siberia and Far East*. Blagoveshchensk; 2015; 2015:18–21 (in Russian).
16. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M., Zinov'ev S.V., Ushakova E.V., Makarova G.A., Naumov D.E. Cellular profile of the induced sputum, the level of myeloperoxidase and neutrophilic blood elastase in patients with bronchial asthma with airway hyperresponsiveness to hyposmolar stimulus. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2015; (57):8–14 (in Russian).
17. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M., Zinov'ev S.V., Afanas'eva E.Yu. Phenotypical features of bronchial inflammation in patients with asthma with different types of airway response to hyposmolar and cold stimuli. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2015; 58:8–14. (in Russian).
18. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M., Zinov'ev S.V., Naumov D.E., Afanas'eva E.Yu. Summary Inflammatory-cellular composition of the induced sputum in patients with asthma with different types of airway response to hyperosmolar stimulus. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2016; 59:8–15 (in Russian).
19. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M., Zinov'ev S.V., Afanas'eva E.Yu., Kolosov V.P. Inflammatory pattern of bronchial mucosa in patients with bronchial asthma and airway hyperresponsiveness to hyposmotic stimulus. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny* 2016; 161(4):542–546 (in Russian).
20. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka; 2011 (in Russian).
21. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P., Ul'yanychev N.V., Naryshkina S.V., Afanas'eva E.Yu. Features of bronchial asthma clinical course in patients with isolated and combined airway hyperresponsiveness to cold and hyposmotic stimuli. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2014; (53):36–41 (in Russian).
22. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Pirogov A.B., Borodin E.A., Ushakova E.V., Ul'yanychev N.V., Kolosov A.V. Phenotypic differences and peculiarities of inflammation in asthmatics with isolated and combined airway hyperresponsiveness to cold air and distilled water. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2014; (54):8–16 (in Russian).
23. Serebrennikova S., Seminsky I. The role of cytokines in the inflammatory process (Part 1). *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)* 2008; 81(6):5–8 (in Russian).
24. Titov V.N. The significance of macrophages in the onset of inflammation; the effects of interleukin-1, interleukin-6 and the activity of hypothalamo-hypophysis system (a survey). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2003; 12: 3–10 (in Russian).
25. Hayhoe F.G.H., Quaglino D. Hematological cytochemistry. Moscow: Meditsina; 1983 (in Russian).
26. Alenmyr L., Herrmann A., Högestätt E.D., Greiff L., Zygmunt P.M. TRPV1 and TRPA1 stimulation induces MUC5B secretion in the human nasal airway in vivo. *Clin. Physiol. Funct. Imaging* 2011; 31(6):435–444.
27. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: from bench to bedside. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18(10):1415–1422.
28. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5(8): 577–582.
29. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2016). Available at: [www.ginasthma.com](http://www.ginasthma.com).
30. Jin Y.-S., Park K.-K., Park J.-Y., Kim M.J., Lee W.-L., Kim H.-Y., Lee H.-J., Park E.-K. Effects of exercise induced oxidative stress and antioxidant supplementation on NF- $\kappa$ B activation in peripheral mononuclear cells. *Korean J. Sports Med.* 2000; 18(2):261–270.
31. Kolosov V.P., Pirogov A.B., Zinov'ev S.V., Prikhodko A.G., Perelman J.M. Phenotyping of the induced sputum of patients with asthma and concomitant airway hyperresponsiveness to hypoosmolar stimulus. *Respirology* 2015; 20(Suppl.3):14.
32. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 77(5):598–625.
33. Li M.C., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8



(TRPM8)-mediated mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128(3):626–634.

34. Maltseva T.A., Pirogov A.B., Kolosov V.P., Naryshkina S.V., Ushakova E.V. Cell composition of induced sputum in patients with uncontrolled asthma and its participation in the formation of cold hyperresponsiveness. *Eur. Respir. J.* 2013; 42(Suppl.57):2022.

35. Perelman J.M., Pirogov A.B., Prihodko A.G., Zinoviev S.V., Kolosov V.P., Maltseva T. A. Myeloperoxidase of bronchial leucocytes as a biomarker of osmotic

bronchial hyperresponsiveness in asthmatics. *Eur. Respir. J.* 2015; 46(Suppl.59):A3872.

36. Taylor-Clark T.E., Undem B.J. Transduction mechanisms in airway sensory nerve. *J. Appl. Physiol.* 2006; 101(3): 950–959.

37. Wood L.G., Baines K.I., Fu J., Scott H.A., Gibson P.G. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. *Chest* 2012; 142(1):86–93.

Поступила 12.07.2016

Контактная информация

Алексей Борисович Пирогов,

кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории профилактики НЗЛ,  
Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания,  
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: [dncfpd@ramn.ru](mailto:dncfpd@ramn.ru)

Correspondence should be addressed to

Aleksey B. Pirogov,

MD, PhD, Associate professor, Senior staff scientist of 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@ramn.ru](mailto:dncfpd@ramn.ru)