

DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-1-10-16

# Клинико-иммунологические характеристики тяжелой бронхиальной астмы с сенсibilизацией к грибам рода *Aspergillus*

Я.И. Козлова<sup>1</sup>, Е.В. Фролова<sup>2</sup>, А.Е. Учеваткина<sup>2</sup>, Л.В. Филиппова<sup>2</sup>, О.В. Аак<sup>2</sup>,  
В.Д. Кузнецов<sup>1</sup>, Н.В. Васильева<sup>2</sup>, Н.Н. Клишко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия  
<sup>2</sup>НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова  
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

## РЕЗЮМЕ

**Цель исследования:** оценить клинико-иммунологические характеристики больных тяжелой бронхиальной астмой (БА) с сенсibilизацией к *Aspergillus* и изучить возможности применения теста активации базофилов с использованием проточной цитометрии для выявления микогенной сенсibilизации.

**Материал и методы:** проведено обследование 93 больных тяжелой БА. Объем терапии соответствовал 4-й или 5-й ступени по GINA 2019. Содержание TARC (thymus and activation regulated chemokine, тимус-ассоциированный регуляторный хемокин), количество эозинофилов, уровни общего IgE и специфических IgE к 10 аллергенам определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом. Выполнили тест активации базофилов с аллергеном *Aspergillus fumigatus* в условиях *in vitro* с использованием проточной цитометрии.

**Результаты исследования:** сенсibilизацию к *Aspergillus* выявили у 33 (35,4%) больных тяжелой БА. У больных БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* течение заболевания было неконтролируемое, пациенты в этой группе достоверно чаще получали пероральные глюкокортикостероиды. Количество базофилов, активированных аллергеном *A. fumigatus*, и индекс стимуляции у больных БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* были достоверно выше по сравнению с показателями больных БА (9,9 (6,0–24,0) % против 3,6 (2,0–5,4) % ( $p=0,000$ ); 4,25 (2,49–9,30) против 0,94 (0,75–1,16) ( $p=0,000$ )). Получены значимые различия содержания TARC в группах больных тяжелой БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* и больных БА (625,0 (418,4–875,0) пг/мл против 406,0 (210,0–561,0) пг/мл ( $p=0,001$ )). Выявлена отрицательная корреляционная связь между уровнями TARC и уменьшением объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ<sub>1</sub>) ( $r=-0,70$ ,  $p<0,05$ ) и положительная корреляционная связь с абсолютным числом эозинофилов ( $r=0,81$ ,  $p<0,05$ ), уровнем специфических IgE к *Aspergillus* ( $r=0,36$ ,  $p<0,05$ ).

**Заключение:** сенсibilизация к *Aspergillus* ассоциирована с неконтролируемым течением БА. Дополнительным методом диагностики микогенной сенсibilизации является тест активации базофилов. Концентрация TARC может служить в качестве биомаркера активной воспалительной реакции.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** *Aspergillus* spp., тяжелая бронхиальная астма, микогенная сенсibilизация, тест активации базофилов, TARC.

**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:** Козлова Я.И., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е. и др. Клинико-иммунологические характеристики тяжелой бронхиальной астмы с сенсibilизацией к грибам рода *Aspergillus*. РМЖ. Медицинское обозрение. 2021;5(1):10–16. DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-1-10-16.

## Clinical and immunological characteristics of severe bronchial asthma with *Aspergillus* sensitization

Ya.I. Kozlova<sup>1</sup>, E.V. Frolova<sup>2</sup>, A.E. Uchevatkina<sup>2</sup>, L.V. Filippova<sup>2</sup>, O.V. Aak<sup>2</sup>,  
V.D. Kuznetsov<sup>1</sup>, N.V. Vasilieva<sup>2</sup>, N.N. Klimko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg,  
Russian Federation

<sup>2</sup>P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, I.I. Mechnikov North-Western  
State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation

## ABSTRACT

**Aim:** to assess the clinical and immunological characteristics of patients with severe bronchial asthma (BA) with *Aspergillus* sensitization and to study the possibilities of applying basophil activation test (BAT) using flow cytometry to detect mycogenic sensitization.

**Patients and Methods:** 93 patients with severe BA were examined. Therapy had 4 or 5 steps according to GINA 2019 recommendations. TARC (thymus and activation-regulated chemokine) content, the number of eosinophils, the levels of total IgE and specific IgE to 10 allergens were determined in blood serum by enzyme immunoassay. BAT with *Aspergillus fumigatus* allergen was performed *in vitro* using flow cytometry.

**Results:** *Aspergillus* sensitization was detected in 33 (35.4%) patients with severe BA. In patients with BA and *Aspergillus* sensitization, the disease course was uncontrolled, and patients in this group were credibly more likely to receive oral glucocorticosteroids. The number of basophils (activated by the *A. fumigatus* allergen) and the stimulation index in patients with BA and *Aspergillus* sensitization were significantly

higher than in patients with BA (9.9 (6.0–24.0) % vs. 3.6 (2.0–5.4) %; ( $p=0.000$ ) and 4.25 (2.49–9.30) vs. 0.94 (0.75–1.16); ( $p=0.000$ )). Significant differences in TARC content were obtained in the groups of patients with severe BA and *Aspergillus* sensitization and patients with BA (625.0 (418.4–875.0) pg/mg versus 406.0 (210.0–561.0) pg/mg;  $p=0.001$ ). A negative correlation was determined between TARC levels and a decrease in forced expiratory volume in 1 second ( $FEV_1$ ) ( $r=-0.70$ ,  $p<0.05$ ), and between positive correlation and absolute eosinophil count ( $r=0.81$ ,  $p<0.05$ ) and level of specific IgE to *Aspergillus* ( $r=0.36$ ,  $p<0.05$ ).

**Conclusion:** *Aspergillus* sensitization is associated with an uncontrolled BA course. An additional method for diagnosing mycogenic sensitization is the BAT. The TARC concentration can serve as a biomarker of an active inflammatory response.

**KEYWORDS:** *Aspergillus* spp., severe bronchial asthma, mycogenic sensitization, basophil activation test, TARC.

**FOR CITATION:** Kozlova Ya.I., Frolova E.V., Uchevatkina A.E. et al. Clinical and immunological characteristics of severe bronchial asthma with *Aspergillus* sensitization. Russian Medical Inquiry. 2021;5(1):10–16. DOI: 10.32364/2587-6821-2021-5-1-10-16.

## ВВЕДЕНИЕ

Бронхиальная астма (БА) — хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, которое в настоящее время является глобальной медико-социальной проблемой. БА рассматривают как гетерогенное заболевание, которое имеет высокую распространенность и вариабельность течения [1, 2]. С учетом триггерного фактора, возраста дебюта, сопутствующих заболеваний выделяют различные клинические фенотипы БА [3]. Персонализированный подход с учетом фенотипа заболевания очень важен для оптимизации терапии.

Несмотря на то, что аллергическая БА остается наиболее распространенным и изученным клиническим фенотипом БА, существует множество противоречивых моментов, особенно в отношении роли сенсibilизирующих аллергенов для определения тяжести и прогноза заболевания. Важное место среди известных источников аэроаллергенов занимают микроскопические грибы (микроспидии). Плесневые грибы распространены повсеместно, и поэтому микогенная сенсibilизация может быть выявлена у людей во всем мире. По данным различных исследований, распространенность гиперчувствительности к плесневым грибам составляет от 3% до 10% среди населения в целом. Описаны взаимосвязи между сенсibilизацией к микромицетам и развитием тяжелой, жизнеугрожающей БА. Согласно результатам ряда исследований сенсibilизация к одному или нескольким грибковым аллергенам ассоциирована с более низкой функцией легких, а также высокой частотой обострений и госпитализаций [4–6].

Для того чтобы подчеркнуть важную роль микроскопических грибов в патогенезе БА, в 2006 г. предложен термин «тяжелая БА с микогенной сенсibilизацией» (ТБАМС). Для ТБАМС характерно неконтролируемое течение заболевания с большим количеством обострений. При аллергологическом обследовании *in vivo* и/или *in vitro* определяют сенсibilизацию к антигенам микромицетов. Наиболее значимыми источниками грибковых аллергенов являются *Alternaria* spp. и *Aspergillus* spp. Кроме того, в отличие от больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом, при ТБАМС не выявляют бронхоэктазы и скопления слизи, а уровень общего IgE в сыворотке крови составляет менее 1000 МЕ/мл [7]. Таким образом, это группа больных, заболевание у которых недостаточно контролируется, несмотря на максимальные дозы ингаляционных глюкокортикостероидов (ГКС), они могут нуждаться в противогрибковой терапии [8]. Однако данные об истинной распространенности ТБАМС и результатах лечения противоречивы.

Исследования, посвященные грибковой сенсibilизации при БА, неоднородны и на сегодняшний день включают данные о пациентах с заболеванием разной степе-

ни тяжести, в то время как особый интерес представляют именно больные тяжелой БА, рефрактерные к традиционной терапии. Для того чтобы снизить частоту обострений и добиться лучшего контроля над заболеванием, необходима дальнейшая характеристика фенотипа ТБАМС и разработка альтернативных вариантов терапии.

**Цель исследования** — оценить клинико-иммунологические характеристики больных тяжелой БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* и изучить возможности применения теста активации базофилов с использованием проточной цитометрии для выявления микогенной сенсibilизации.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включили 93 взрослых больных тяжелой БА. Все больные получали лечение, которое соответствовало 4-й или 5-й ступени по GINA (Global Initiative for Asthma — Глобальная инициатива по бронхиальной астме) [1].

Согласно международным критериям неконтролируемую БА определяли по наличию по крайней мере одного из следующих признаков [9]:

- ♦ плохой контроль симптомов БА: Asthma Control Questionnaire  $\geq 1,5$ ; Asthma Control Test (ACT)  $< 20$ ;
- ♦ частые, тяжелые обострения БА: 2 курса системных ГКС и более (продолжительностью более 3 дней каждый) в предыдущий год;
- ♦ серьезные обострения: по крайней мере 1 госпитализация, пребывание в отделении интенсивной терапии или механическая вентиляция легких в предыдущий год;
- ♦ ограничение бронхиальной проходимости: объем форсированного выдоха за 1-ю секунду ( $ОФВ_1$ )  $< 80\%$  должного (в условиях редуцированного  $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ , определяемого как уровень меньше нижней границы нормальных значений) при соблюдении рекомендации относительно соответствующего перерыва после бронходилататоров.

Всем больным, включенным в исследование, методом иммуноферментного анализа определяли уровень общего IgE (ООО «Полигност», Россия) и специфических IgE (sIgE) к 10 аллергенам в сыворотке крови. Использовали панель биотинилированных аллергенов «Алкор Био» (Россия). Критерием микогенной сенсibilизации считали повышение уровня sIgE к грибковому аллергену в сыворотке крови выше  $\geq 0,35$  МЕ/мл [10].

Определение концентрации TARC (thymus and activation regulated chemokine, тимус-ассоциированный регуляторный хемокин) в сыворотке крови осуществляли с помощью иммуноферментных тест-систем (R&D Systems, США), концентрация анализата была рассчитана по стандартным кривым и выражена в пг/мл.

Для выполнения теста активации базофилов к образцам крови добавляли моноклональные антитела CD203c-PE, CD3-PC7, CRTH2-FITC, входящие в состав набора Allergenicity kit (Beckman Coulter, США). Пробу крови каждого субъекта инкубировали в течение 15 мин при 37 °С в темноте: с буферным раствором — отрицательный контроль; с моноклональными антителами к IgE — положительный контроль; с аллергеном *Aspergillus fumigatus* — опытный образец. Затем проводили лизис эритроцитов. Подсчет не менее чем 500 базофилов проводили на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США). Активированные базофилы идентифицировали как клетки с высокой экспрессией CD203c.

Для оценки выраженности и обратимости бронхиальной обструкции всем включенным в исследование пациентам выполняли спирометрию и пробу с бронхолитическим препаратом.

Для субъективной оценки уровня контроля БА использовали опросник АСТ, который больные заполняли ежедневно в течение последних 4 нед. АСТ содержит 5 вопросов с 5-балльной оценкой ответов, сумма 25 баллов означает полный контроль заболевания.

Полученные в процессе исследования данные обрабатывали с помощью программной системы Statistica 10. Данные представляли в виде медианы и нижнего и верхнего квартилей (Me (Q0,25–Q0,75)). Сопоставление частотных характеристик качественных показателей проводили с помощью непараметрических методов  $\chi^2$  Пирсона с поправкой Йетса, двусторонний точный тест Фишера. Сравнение количественных параметров в исследуемых группах осуществляли с применением критериев Манна — Уитни. Корреляции были проверены с помощью теста Спирмена. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В микологической клинике ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России обследованы 93 больных тяжелой БА. Медиана возраста составила 52 года (40–63), мужчин было 24, женщин — 69. Характеристики больных представлены в таблице 1.

Все пациенты для базисной терапии БА получали 2 и более препаратов. Из них 54 (58,0%) больных для контроля симптомов использовали 3 препарата, 8 (8,6%) — 4 и более.

Низкий балл при заполнении анкеты АСТ (<20 баллов) выявили у 65 больных. У 22 (23,7%) больных были серьезные обострения, которые потребовали  $\geq 2$  курсов системных ГКС в предыдущий год; у 16 (17,2%) больных была по крайней мере 1 госпитализация по поводу обострения БА в прошлом году, 41 (44,1%) больной имел  $ОФВ_1 < 80\%$  и  $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 0,7$  при тестировании функции легких. В целом у 65 (70%) пациентов был один или несколько из вышеперечисленных показателей неконтролируемой БА.

Микогенную сенсibilизацию к *Aspergillus* выявили у 33 больных БА, что составило 35,4% от общего числа обследованных. Уровень sIgE к *Aspergillus* варьировал от 0,35 МЕ/мл до 2,30 МЕ/мл.

На следующем этапе выделили группы больных тяжелой БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* и без сенсibilизации к *Aspergillus*. Сравнили базовые характеристики у больных обследованных групп. Данные представлены в таблице 2.

**Таблица 1.** Характеристика больных тяжелой БА  
**Table 1.** Characteristics of patients with severe BA

Параметр Parameter	Значение Value
<b>Демографические характеристики</b> Demographic characteristics	
возраст, лет / age, years	52 (40–63)
пол (мужчины), n (%) / gender (male), n (%)	24 (28,5%)
индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> / body mass index, kg/m <sup>2</sup>	26,0 (23,0–30,0)
АСТ, баллов / AST, score	16,0 (11,0–20,0)
возраст начала астмы, лет / age at asthma onset, years	30,0 (20,0–49,5)
отягощенная наследственность по астме, n (%) burdened history of asthma, n (%)	21 (22,6%)
аллергический ринит, n (%) / allergic rhinitis (%)	53 (57%)
<b>Количество препаратов для базисной терапии БА, n (%)</b> Number of drugs for BA baseline therapy, n (%)	
2	31 (33,4%)
3	54 (58,07%)
$\geq 4$	8 (8,61%)
<b>Функция внешнего дыхания</b> External respiration function	
ОФВ <sub>1</sub> , % / FEV <sub>1</sub> , %	64,0 (51,0–80,0)
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, % / FEV <sub>1</sub> /FVC, %	70,7 (61,0–79,0)
<b>Иммунологические характеристики</b> Immunological characteristics	
уровень общего IgE, МЕ/мл / total IgE level, IU/ml	160,0 (24,5–712,5)
абс. количество эозинофилов, $\times 10^9$ / absolute eosinophil count, $\times 10^9$	0,42 (0,23–0,85)
<b>Критерии неконтролируемой астмы, n (%)</b> Uncontrolled asthma criteria, n (%)	
АСТ <20 баллов / AST <20 points	65 (70%)
$\geq 2$ курсов системных ГКС в год $\geq 2$ courses of systemic GCS per year	22 (23,7%)
госпитализация в течение 1 года hospitalization within 1 year	16 (17,2%)
ОФВ <sub>1</sub> <80% от должного, ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ <0,7 FEV <sub>1</sub> <80% of reference, FEV <sub>1</sub> /FVC <0.7	41 (44,1%)

Группы не отличались между собой по полу и возрасту. Индекс массы тела у больных БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* составил 25,4 (21,0–29,0) кг/м<sup>2</sup> и был достоверно ниже, чем в группе сравнения ( $p=0,039$ ).

При заполнении анкеты АСТ в группе больных с сенсibilизацией к *Aspergillus* зарегистрирован более низкий балл, который достоверно отличался от результатов больных БА без сенсibilизации к *Aspergillus* (11,0 (10,0–16,0) баллов против 18 (13,5–21,0) баллов;  $p=0,000$ ). Кроме того, при исследовании функции внешнего дыхания больные БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* демонстрировали достоверно более низкие показатели ОФВ<sub>1</sub>, (57,0 (46,0–63,0) % против 72,5 (53,0–84,5) %;  $p=0,001$ ) и индекса Тиффно (68,0 (56,0–61,0) % против 73,7 (63,8–81,5) %;  $p=0,025$ ).

Анализ критериев неконтролируемой БА выявил, что в группе БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* преобладали больные, у которых был низкий балл (<20 баллов) при заполнении анкеты АСТ (87,9% против 60,0%;  $p=0,005$ ), а также больные с худшими спирометрическими характеристиками (60,6% против 35,0%;  $p=0,028$ ). Кроме того, в группе больных с микогенной сенсibilизацией для купирования тяжелых обострений чаще использовали курсы системных ГКС (36,4% против 16,7%;  $p=0,043$ ).

**Таблица 2.** Характеристика больных БА в зависимости от наличия сенсибилизации к *Aspergillus***Table 2.** Characteristics of patients with BA depending on the presence of *Aspergillus* sensitization

Характеристика пациентов Characteristics of patients	БА без сенсибилизации к <i>Aspergillus</i> / BA without <i>Aspergillus</i> sensitization (n=60)	БА с сенсибилизацией к <i>Aspergillus</i> / BA with <i>Aspergillus</i> sensitization (n=33)	p
<b>Демографические и клинические характеристики</b> Demographic and clinical characteristics			
возраст, лет / age, years	51 (38–63)	54 (43–63)	0,825
пол (мужчины), n (%) / gender (male), n (%)	16 (26,7%)	8 (24,2%)	1,000
индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> / body mass index, kg/m <sup>2</sup>	26,0 (24,0–30,0)	25,4 (21,0–29,0)	0,039
АСТ, баллов / AST, score	18,0 (13,5–21,0)	11,0 (10,0–16,0)	0,000
возраст начала астмы, лет / age at asthma onset, years	36,0 (24,0–54,5)	26,5 (18,0–40,0)	0,055
ОФВ <sub>1</sub> , % / FEV <sub>1</sub> , %	72,5 (53,0–84,5)	57,0 (46,0–63,0)	0,001
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, % / FEV <sub>1</sub> /FVC, %	73,7 (63,8–81,5)	68,0 (56,0–61,0)	0,025
<b>Критерии неконтролируемой астмы, n (%)</b> Uncontrolled asthma criteria, n (%)			
АСТ <20 баллов / AST <20 points	36 (60%)	29 (87,9%)	0,005
≥2 курсов системных ГКС в год GCS per year	10 (16,7%)	12 (36,4%)	0,043
госпитализация в течение 1 года / hospitalization within 1 year	10 (16,7%)	6 (18,2%)	1,000
ОФВ <sub>1</sub> <80% от должного, ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ<0,7 / FEV <sub>1</sub> <80% of reference, FEV <sub>1</sub> /FVC<0.7	21 (35%)	20 (60,6%)	0,028

Между группами не установлено различий по частоте госпитализации в течение 1 года по поводу тяжелых обострений заболевания.

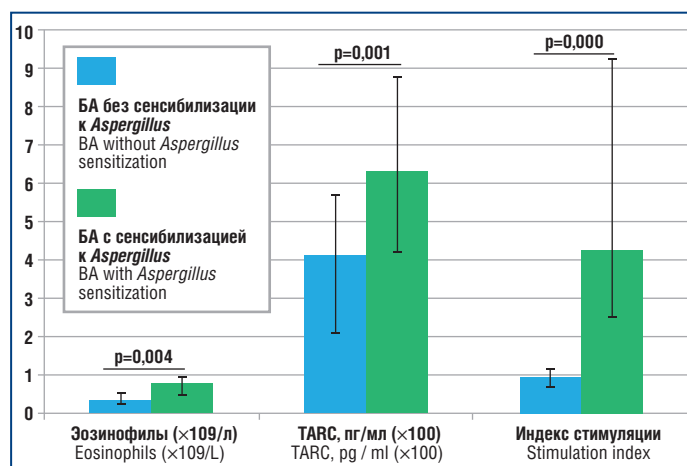
В целом у 28 (84,8%) больных с сенсибилизацией к *Aspergillus* был один или несколько показателей неконтролируемой БА по сравнению с 22 (36,0%) пациентами без сенсибилизации *Aspergillus* (p=0,001).

Кроме того, на следующем этапе для подтверждения IgE-опосредованного механизма гиперчувствительности к плесневым микромицетам провели дополнительное исследование. В настоящее время одним из наиболее перспективных направлений иммунодиагностики *in vitro* является проточная цитометрия. Больным тяжелой БА выполнили тест активации базофилов с аллергеном *A. fumigatus* с использованием метода проточной цитометрии.

Количество базофилов, активированных аллергеном *A. fumigatus*, у больных БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* было 9,9 (6,0–24,0) %. Этот показатель достоверно отличался от значений в группе сравнения — 3,6 (2,0–5,4) %; p=0,000. В ходе исследования учитывали значение индекса стимуляции (ИС): отношение процента активированных базофилов в пробе с аллергеном к проценту их спонтанной активации в отрицательном контроле. ИС у больных БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* составил 4,25 (2,49–9,30) и был достоверно выше, чем ИС больных БА, — 0,94 (0,75–1,16); p=0,000 (рис. 1).

Известно, что вследствие продолжительной аллергеной стимуляции гуморального иммунного ответа у больных БА с микогенной сенсибилизацией содержание общего IgE в сыворотке крови может значительно повышаться. В ходе нашего исследования у больных БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* установлено более высокое значение уровня общего IgE МЕ/мл по отношению к показателю группы сравнения (369,0 (40,0–804,0) МЕ/мл против 114,0 (10,0–565,0) МЕ/мл; p=0,122), но различия не были достоверны.

Абсолютное количество эозинофилов у больных БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* было 0,78 (0,48–



**Рис. 1.** Иммунологические характеристики больных тяжелой БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* (n=33) и без сенсибилизации к *Aspergillus* (n=60)

**Fig. 1.** Immunological characteristics of patients with severe BA with *Aspergillus* sensitization (n=33) and without it (n=60)

0,94) ×10<sup>9</sup>/л. Эти показатели были достоверно выше по сравнению с показателями группы сравнения — 0,32 (0,23–0,53) ×10<sup>9</sup>/л; p=0,004. При дальнейшем иммунологическом обследовании получены значимые различия содержания TARC в группе больных тяжелой БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* и больных БА (625,0 (418,4–875,0) пг/мл против 406,0 (210,0–561,0) пг/мл; p=0,001).

Выявленные достоверные различия в иммунологических характеристиках больных тяжелой БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* и без сенсибилизации к *Aspergillus* представлены на рисунке 1.

В ходе работы выявлена отрицательная корреляционная связь между уровнями TARC в сыворотке крови и снижением ОФВ<sub>1</sub> (r=-0,70, p<0,05) и положительная корреляционная связь с абсолютным числом эозинофилов (r=0,81, p<0,05),

уровнем sIgE к *A. fumigatus* ( $r=0,36$ ,  $p<0,05$ ). Полученные результаты свидетельствуют о важной патогенетической роли TARC в формировании ответа Т-хелперов 2 типа (Th2) у больных с микогенной сенсибилизацией и подтверждают взаимосвязь гиперчувствительности немедленного типа к грибам рода *Aspergillus* с тяжестью течения БА.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Опубликованы данные, согласно которым частота микогенной сенсибилизации у больных БА варьирует в широких пределах. Результаты метаанализа 21 исследования свидетельствуют, что частота сенсибилизации к *Aspergillus spp.* у больных БА различной степени тяжести составляет около 28% [11].

Исследования, проведенные в группе тяжелой БА, немногочисленны. Результаты исследования в Северной Индии свидетельствуют о высокой частоте (50,9%) сенсибилизации к *Aspergillus* у пациентов с тяжелой БА. Однако эта работа включала только больных, поступивших в отделение интенсивной терапии, не учитывая другие критерии тяжелого течения заболевания [12].

В Великобритании получены данные о более высокой степени распространенности микогенной сенсибилизации. В исследовании O'Driscoll et al. 66% больных БА, которые находились на 4-й или 5-й ступени терапии по GINA, были сенсибилизированы к различным грибковым аллергенам [13].

В 2017 г. опубликованы результаты исследования J.G. Ken et al., проведенного в многоэтнической азиатской когорте больных тяжелой БА. Авторы проанализировали результаты кожных прик-тестов, на основании которых распространенность сенсибилизации к *Aspergillus* составила 11,7%. Важно отметить, что именно сенсибилизация к *Aspergillus*, а не к другим аллергенам, была независимо связана с более низкими показателями функции внешнего дыхания и частыми обострениями БА [14].

Такие широкие расхождения в распространенности, вероятно, можно объяснить различными методологическими подходами. Британские исследователи применяли для диагностики как прик-тест, так и определение sIgE к различным грибам (*Aspergillus*, *Candida*, *Alternaria*) в сыворотке крови. Несмотря на это, распространенность сенсибилизации только к *A. fumigatus* составляла 45%. Также вероятно влияние генетических факторов и различий в окружающей среде. В азиатской когорте также были выявлены различия в частоте микогенной сенсибилизации среди разных этнических групп, хотя они не были статистически достоверны.

В проведенном исследовании частота сенсибилизации к *Aspergillus* у больных тяжелой БА составила 35,4%. Следует отметить, что наше исследование является одним из немногих, которые оценивают распространенность сенсибилизации к *Aspergillus* у больных тяжелой БА.

По мнению ряда экспертов, микогенная сенсибилизация ассоциирована с тяжелым, неконтролируемым течением БА. В исследовании R. Agarwal et al. описывают ассоциацию между сенсибилизацией к *Aspergillus* и низкими показателями функции внешнего дыхания у больных БА [15]. Кроме того, результаты ряда работ свидетельствуют о влиянии сенсибилизации к *A. fumigatus* на ухудшение функции легких и развитие бронхоэктазов у больных БА [16]. Также опубликованы данные о том, что сенсибилизация к *A. fumigatus* связана с более низкой функцией легких при некоторых хронических респиратор-

ных заболеваниях, включая муковисцидоз [17] и хроническую обструктивную болезнь легких [18].

Эти данные согласуются с полученными нами результатами. У обследованных больных выявлена взаимосвязь между сенсибилизацией к *Aspergillus* и неконтролируемым течением БА. У пациентов с сенсибилизацией к *Aspergillus* было зафиксировано большее количество обострений, требующих назначения пероральных ГКС, а также более выраженные обструктивные нарушения функции внешнего дыхания.

Известно, что диагностические грибковые аллергены для кожных проб в нашей стране, к сожалению, отсутствуют. Использование экстрактов плесневых грибов в определении sIgE может приводить как к ложноположительным результатам — из-за компонентов с перекрестной реактивностью, так и к ложноотрицательным результатам — из-за отсутствия мажорных белков в экстракте. Кроме того, выполнение провокационных исследований с плесневыми грибами связано с риском развития системных реакций. Поэтому поиск новых тестов для выявления микоаллергозов является актуальной задачей современной аллергологии.

Среди перспективных направлений лабораторной диагностики особое место занимает тест активации базофилов специфическими аллергенами с помощью проточной цитометрии. Проведение данного теста может быть рекомендовано как дополнение к традиционному подтверждению аллергических реакций 1-го типа, которое обычно включает определение sIgE в сыворотке крови и кожное тестирование.

По данным отечественных исследователей, применение теста активации базофилов возможно в диагностике инсектной, лекарственной аллергии, а также хронической крапивницы [19, 20]. Полученные в ходе нашей работы результаты свидетельствуют о том, что тест может быть использован в качестве дополнительного метода выявления сенсибилизации к плесневым грибам у больных БА.

Согласно современным представлениям тяжелая БА — это та астма, контроль которой может быть достигнут только на максимально высоком уровне терапии. В ряде случаев больные вынуждены принимать системные ГКС, что приводит к развитию большого количества побочных эффектов. Изучение роли различных иммунологических медиаторов в формировании хронического аллергического воспаления у больных тяжелой БА необходимо для определения оптимального терапевтического подхода и разработки новых иммунобиологических препаратов.

Распространено мнение, что патогенез тяжелой БА с микогенной сенсибилизацией связан с инициированием иммунного ответа при продолжительном или повторном воздействии грибковых спор [21]. Сходный патогенетический механизм описан у больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом (АБЛА), когда преобладает воспалительный ответ Th2 на антигены *Aspergillus*, колонизирующие дыхательные пути [22].

Известно, что TARC участвует в патогенезе аллергических заболеваний, привлекая Th2-клетки в очаг воспаления [23]. Важная роль TARC в возникновении гиперчувствительности немедленного типа к *A. fumigatus* подтверждена на экспериментальных животных [24]. В клинических исследованиях показано, что TARC в отличие от других цитокинов и хемокинов является высокочувствительным

и специфическим маркером АБЛА у больных муковисцидозом. Опубликованы результаты исследований, в которых высокие уровни ТАРС в сыворотке крови определяли у больных муковисцидозом еще до развития АБЛА. Повышение уровня этого хемокина было зафиксировано до нарастания уровня общего IgE. Авторы предложили использовать определение ТАРС для прогнозирования развития АБЛА у больных из групп риска [25, 26].

Концентрация ТАРС была достоверно выше у больных тяжелой БА с сенсibilизацией к *Aspergillus*, чем у больных тяжелой БА без сенсibilизации к *Aspergillus*. Полученные данные согласуются с нашей предыдущей работой, в которой концентрацию данного хемокина оценивали в группах больных АБЛА и БА с микогенной сенсibilизацией [27]. Таким образом, повышение содержания ТАРС у больных БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* и его связь со степенью выраженности микогенной сенсibilизации и клиническими проявлениями заболевания позволяют рассматривать данный показатель в качестве биомаркера активной воспалительной реакции у этой категории больных.

В нашем исследовании среди пациентов с тяжелой БА была выделена группа больных с сенсibilизацией к грибам рода *Aspergillus*, у которых в дальнейшем для достижения контроля заболевания может быть рассмотрено применение антимикотической терапии и моноклональных антител.

## Выводы

1. Частота сенсibilизации к *Aspergillus* больных тяжелой БА составила 35,4%.
2. Выявлена взаимосвязь между сенсibilизацией к *Aspergillus* и неконтролируемым течением БА. У больных тяжелой БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* было зафиксировано большее количество обострений, требующих назначения системных ГКС, а также более выраженные obstructивные нарушения функции внешнего дыхания.
3. Перспективным методом лабораторной диагностики микогенной сенсibilизации у больных БА является тест активации базофилов с аллергенами *A. fumigatus* с использованием проточной цитометрии.
4. Концентрация ТАРС, повышенная в группе больных тяжелой БА с сенсibilизацией к *Aspergillus*, может использоваться в качестве биомаркера активной воспалительной реакции.

## Литература/References

1. Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2019. (Electronic resource.) URL: <http://www.ginasthma.org> (access date: 26.02.2020).
2. Murray C.J., Vos T., Lozano R. et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *Lancet*. 2012;380:2197–2223. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61689-4.
3. Wenzel S. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. *Lancet*. 2006;368:804–813. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)69290-8.
4. Bush R.K., Portnoy J.M., Saxon A. et al. The medical effects of mold exposure. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006;117:326–333. DOI: 10.1016/j.jaci.2005.12.001.
5. Knutsen A.P., Bush R.K., Demain J.G. et al. Fungi and allergic lower respiratory tract diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012;129:280–291. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.12.970.

6. Fairs A., Agbetile J., Hargadon B. et al. IgE sensitization to *Aspergillus fumigatus* is associated with reduced lung function in asthma. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 2010;182:1362–1368. DOI: 10.1164/rccm.201001-0087OC.
7. Denning D.W., Pashley C., Hartl D. et al. Fungal allergy in asthma—state of the art and research needs. *Clin Transl Allergy*. 2014;4:14. DOI: 10.1186/2045-7022-4-14.
8. Denning D.W., O'Driscoll B.R., Powell G. et al. Randomized controlled trial of oral antifungal treatment for severe asthma with fungal sensitization: The Fungal Asthma Sensitization Trial (FAST) study. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 2009;179:11–18. DOI: 10.1164/rccm.200805-737OC.
9. Chung K.P. et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur. Respir. J.* 2014;43:343–373.
10. Agarwal R., Chakrabarti A., Shah D. et al. For the ABPA complicating asthma ISHAM working group 2013. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin Exp Allergy*. 2013;43:850–873. DOI: 10.1111/cea.12141.
11. Agarwal R., Aggarwal A.N., Gupta D., Jindal S.K. *Aspergillus* hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with bronchial asthma: Systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 2009;13:936–944.
12. Agarwal R., Nath A., Aggarwal A.N. et al. *Aspergillus* hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with acute severe asthma in a respiratory intensive care unit in North India. *Mycoses*. 2010;53:138–143. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2008.01680.x.
13. O'Driscoll B.R., Powell G., Chew F. et al. Comparison of skin prick tests with specific serum immunoglobulin e in the diagnosis of fungal sensitization in patients with severe asthma. *Clin. Exp. Allergy*. 2009;39:1677–1683. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2009.03339.x.
14. Goh K.J., Yii A.C.A., Lapperre T.S. et al. Sensitization to *Aspergillus* species is associated with frequent exacerbations in severe asthma. *J Asthma Allergy*. 2017;10:131–140. DOI: 10.2147/JAA.S130459.
15. Agarwal R., Noel V., Aggarwal A.N. et al. Clinical significance of *Aspergillus* sensitisation in bronchial asthma. *Mycoses*. 2011;54:531–539. DOI: 10.1111/j.1439-0507.2010.01971.x.
16. Menzies D., Holmes L., McCumesky G. et al. *Aspergillus* sensitization is associated with airflow limitation and bronchiectasis in severe asthma. *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* 2011;66:679–685. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2010.02542.x.
17. Moss R.B. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and *Aspergillus* infection in cystic fibrosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2010;16:598–603. DOI: 10.1097/MCP.0b013e32833e24a6.
18. Bafadhel M., McKenna S., Agbetile J. et al. *Aspergillus fumigatus* during stable state and exacerbations of COPD. *Eur. Respir. J.* 2014;43:64–71. DOI: 10.1183/09031936.00162912.
19. Шабанов Д.В., Лазаренко Л.Л., Федоскова Т.Г., Рыбникова Е.А. Особенности диагностики аллергии к яду перепончатокрылых насекомых. *PMЖ*. 2019;3:40–44. [Shabanov D.V., Lazarenko L.L., Fedoskova T.G., Rybnikova E.A. Diagnostics of Hymenoptera venom allergy. *RMJ*. 2019;3:40–44 (in Russ.)]. DOI: 10.15789/1563-0625-2015-1-39-46.
20. Синельникова Н.А., Бычкова Н.В., Калинина Н.М. Особенности иммунного ответа и активации базофилов у детей с хронической крапивницей. *Медицинская иммунология*. 2015;17:39–46. [Sinelnikova N.A., Bychkova N.V., Kalinina N.M. Features of immune response and basophil activation in children with chronic urticaria. *Meditsinskaya immunologiya*. 2015;17:39–46 (in Russ.)]. DOI: 10.15789/1563-0625-2015-1-39-46.
21. Agarwal R. Severe asthma with fungal sensitization. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2011;11:403–413. DOI: 10.1007/s11882-011-0217-4.
22. Chotirmall S.H., Al-Alawi M., Mirkovic B. et al. *Aspergillus*-associated airway disease, inflammation, and the innate immune response. *Biomed Res. Int.* 2013;2013:723129. DOI: 10.1155/2013/723129.
23. Becerra-Díaz M., Wills-Karp M., Heller N.M. New perspectives on the regulation of type II inflammation in asthma. *F1000Res*. 2017;6:1014.
24. Margalit A., Kavanagh K. The innate immune response to *Aspergillus fumigatus* at the alveolar surface. *FEMS Microbiol. Rev.* 2015;39:670–687. DOI: 10.1093/femsre/fuv018.
25. Hartl D., Latzin P., Zissel G. et al. Chemokines indicate allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 2006;173:1370–1376. DOI: 10.1164/rccm.200508-1271OC.

26. Latzin P, Hartl D, Regamey N. et al. Comparison of serum markers for allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2008;31:36–42. DOI: 10.1183/09031936.00078107.
27. Козлова Я.И., Фролова Е.В., Филиппова Л.В. и др. Диагностические маркеры аллергического бронхолегочного аспергиллеза. *Медицинская иммунология.* 2018;4:561–570. [Kozlova Y.I., Frolova E.V., Filippova L.V. et al. Diagnostic markers of allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with bronchial asthma. *Meditsinskaya immunologiya.* 2018;4:561–570 (in Russ.)]. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-4-561-570.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

- <sup>1</sup>**Козлова Яна Игоревна** — к.м.н., доцент, доцент кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; 191015, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41; ORCID iD 0000-0002-4602-2438.
- <sup>2</sup>**Фролова Екатерина Васильевна** — к.м.н., заведующая научно-исследовательской лабораторией иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; 194291, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, д. 1/28; ORCID iD 0000-0002-7696-2236.
- <sup>2</sup>**Учеваткина Александра Евгеньевна** — к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; 194291, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, д. 1/28; ORCID iD 0000-0001-6688-7781.
- <sup>2</sup>**Филиппова Лариса Вячеславовна** — к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории иммунологии и аллергологии, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; 194291, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, д. 1/28; ORCID iD 0000-003-4167-7440.
- <sup>2</sup>**Аак Олег Владимирович** — к.х.н., ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории иммунологии и аллергологии, НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; 194291, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, д. 1/28; ORCID iD 0000-0001-8130-7503.
- <sup>1</sup>**Кузнецов Валерий Дмитриевич** — аспирант кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; 191015, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41; ORCID iD 0000-0001-9439-4749.
- <sup>2</sup>**Васильева Наталья Всеволодовна** — д.б.н., директор НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина; 194291, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, д. 1/28; ORCID iD 0000-0003-3693-5468.
- <sup>1</sup>**Климко Николай Николаевич** — д.м.н., профессор, ведущий кафедрой клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России; 191015, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41; ORCID iD 0000-0001-6095-7531.

**Контактная информация:** Козлова Яна Игоревна, e-mail: kozlova510@mail.ru. **Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Конфликт интересов отсутствует.** Статья поступила 06.04.2020, поступила после рецензирования 05.05.2020, принята в печать 28.05.2020.

#### ABOUT THE AUTHORS:

- <sup>1</sup>**Yana I. Kozlova** — Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; 41, Kirochnaya str., St. Petersburg, 191015, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-4602-2438.
- <sup>2</sup>**Ekaterina V. Frolova** — Cand. of Sci. (Med.), Head of the Research Laboratory of Immunology and Allergology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; 1/28, Santiago-de-Cuba str., St. Petersburg, 194291, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-7696-2236.
- <sup>2</sup>**Alexandra E. Uchevatkina** — Cand. of Sci. (Med.), Senior Researcher of the Research Laboratory of Immunology and Allergology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; 1/28, Santiago-de-Cuba str., St. Petersburg, 194291, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-6688-7781.
- <sup>2</sup>**Larisa V. Filippova** — Cand. of Sci. (Med.), Senior Researcher of the Research Laboratory of Immunology and Allergology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; 1/28, Santiago-de-Cuba str., St. Petersburg, 194291, Russian Federation; ORCID iD 0000-003-4167-7440.
- <sup>2</sup>**Oleg V. Aak** — Cand. of Sci. (Chemistry), Senior Researcher of the Research Laboratory of Immunology and Allergology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; 1/28, Santiago-de-Cuba str., St. Petersburg, 194291, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-8130-7503.
- <sup>1</sup>**Valery D. Kuznetsov** — post-graduate student of the Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; 41, Kirochnaya str., St. Petersburg, 191015, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-9439-4749.
- <sup>2</sup>**Natalia V. Vasileva** — Dr. of Sci. (Biology), Director of the P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology; 1/28, Santiago-de-Cuba str., St. Petersburg, 194291, Russia; ORCID iD 0000-0003-3693-5468.
- <sup>1</sup>**Nikolay N. Klimko** — Dr. of Sci (Med.), Professor, Head of the Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; 41, Kirochnaya str., St. Petersburg, 191015, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-6095-7531.
- Contact information:** Yana Kozlova, e-mail: kozlova510@mail.ru. **Financial Disclosure:** no authors have a financial or property interest in any material or method mentioned. There is no conflict of interests. **Received** 06.04.2020, **revised** 05.05.2020, **accepted** 28.05.2020.