

**ВЛИЯНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ *ASPERGILLUS FUMIGATUS* НА РЕГУЛЯЦИЮ ИММУННОГО ОТВЕТА БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ**

Я.И. Козлова<sup>1</sup>,  
Е.В. Фролова<sup>1</sup>,  
И.В. Кудрявцев<sup>2,3</sup>,  
А.Е. Учеваткина<sup>1</sup>,  
Л.В. Филиппова<sup>1</sup>,  
О.В. Аак<sup>1</sup>,  
А.Е. Тараскина<sup>1</sup>,  
А.В. Соболев<sup>1</sup>,  
Н.В. Васильева<sup>1</sup>,  
Н.Н. Климко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербурга, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербурга, Россия

**THE INFLUENCE OF *ASPERGILLUS FUMIGATUS* MICROMYCETES ON IMMUNE RESPONSE REGULATION IN PATIENTS WITH ASTHMA**

Kozlova Y.I.<sup>a</sup>,  
Frolova E.V.<sup>a</sup>,  
Kudryavtsev I.V.<sup>b,c</sup>,  
Uchevatkina A.E.<sup>a</sup>,  
Filippova L.V.<sup>a</sup>,  
Aak O.V.<sup>a</sup>,

Taraskina A.E.<sup>a</sup>,

Sobolev A.V.<sup>a</sup>,

Vasilyeva N.V.<sup>a</sup>,

Klimko N.N.<sup>a</sup>

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

<sup>b</sup> Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>c</sup> Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

**Резюме.** *Введение.* Благодаря мелким размерам спор и термотолерантности, *Aspergillus fumigatus*, способны не только сенсibilизировать больных с атопией, но и колонизировать дыхательные пути, оставаясь постоянным источником аллергенов. В настоящее время роль микроскопических плесневых грибов в иммунопатогенезе бронхиальной астмы изучена недостаточно.

*Цель:* оценить особенности регуляции иммунного ответа больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом (АБЛА) и бронхиальной астмой (БА) с сенсibilизацией к *A.fumigatus*.

*Материалы и методы.* В исследование включили 15 больных АБЛА, 10 больных БА с сенсibilизацией к *A. fumigatus*, 16 больных БА без сенсibilизации к *A. fumigatus*. Группу контроля составили 16 условно здоровых добровольцев. Всем больным проводили клинико-функциональное обследование. Субпопуляционный состав лимфоцитов крови определяли методом проточной цитометрии. Для оценки продукции IFN $\gamma$ , IL-10 и IL-13 к образцам периферической крови добавляли аллерген *A. fumigatus*. Иммуноферментным методом определяли содержание цитокинов в супернатантах клеточных культур, а также уровни общего IgE, специфических IgE (sIgE) к *A. fumigatus*, тимус-ассоциированного регуляторного хемокина (TARC) в сыворотке крови.

*Результаты.* У больных АБЛА и БА с сенсibilизацией к *A. fumigatus* по сравнению с больными БА без сенсibilизации к *A. fumigatus* установлены значимо более высокие уровни общего IgE, sIgE к *A. fumigatus* и TARC в сыворотке крови. Анализ результатов иммунофенотипирования лимфоцитов выявил у всех больных БА по сравнению с группой контроля значимое превышение показателей Th2 клеток памяти и T-регуляторных клеток. У больных с сенсibilизацией к *A. fumigatus* количество Tfh2 было выше, а Th17.1 клеток памяти ниже по сравнению с показателями условно здоровых добровольцев. У больных АБЛА установлены значимо более высокое число Th2 клеток памяти и содержание TARC по сравнению с больными БА с

сенсibilизацией к *A. fumigatus*. Усиление активности Th2 клеток памяти подтверждает повышенная секреция IL-13 и IL-10 на фоне снижения выработки IFN $\gamma$  в ответ на специфическую стимуляцию клеток крови аллергеном гриба по сравнению с больными БА и группой контроля. Выявлена положительная корреляционная связь между количеством Th2 клетками памяти и уровнями sIgE, IgE, TARC и отрицательная с ОФВ1. *Заключение.* Таким образом, контакт с *A. fumigatus* существенно усиливает активность Th2 клеток памяти у больных БА, что может приводить к тяжелому течению заболевания и формированию аллергического бронхолегочного аспергиллеза. Установленные особенности иммунного ответа диктуют необходимость персонализированного подхода к выбору терапевтической тактики у данной категории больных.

**Ключевые слова:** аллергический бронхолегочный аспергиллез, бронхиальная астма, Т-хелперы клетки памяти, хемокины, иммунный ответ, *A.fumigatus*

**Abstract. Introduction.** *Aspergillus fumigatus* is able not only to sensitize patients with atopy, but also to colonize the respiratory tract, remaining a constant source of allergens due to the small spore size and thermal tolerance. Currently, the role of micromycetes in the immunopathogenesis of asthma has been poorly studied.

*The objective* was to evaluate the features of the immune response regulation in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA) or asthma with sensitization to *A.fumigatus*.

*Materials and methods.* There were enrolled 15 patients with ABPA, 10 patients with asthma with sensitization to *A. fumigatus*, 16 patients with asthma without sensitization to *A. fumigatus*. The control group consisted of 16 apparently healthy volunteers. All patients underwent a clinical and functional examination. The subpopulations of blood lymphocytes were assessed by flow cytometry. The *A.fumigatus* allergen was added to peripheral blood samples to evaluate the

production of IFN $\gamma$ , IL-10 and IL-13. The serum cytokine levels in cell culture supernatants, as well as total IgE, *A. fumigatus*-specific IgE (sIgE) as well as thymus and activation-regulated chemokine (TARC) level were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

*Results.* Significantly higher serum levels of total IgE, *A. fumigatus*-specific sIgE and TARC were found in patients with ABPA and asthma with sensitization to *A. fumigatus* compared to patients with asthma without sensitization to *A. fumigatus*. The results of lymphocyte immunophenotyping revealed significant excess of memory Th2 cells and T-regulatory cells in all patients with asthma compared to the control group. The count of Tfh2 was higher but memory Th17.1 cells were lower in patients with sensitization to *A. fumigatus* compared to those of apparently healthy volunteers. Patients with ABPA had significantly higher count of memory Th2 cells and TARC level compared to patients with asthma sensitized to *A. fumigatus*. The increased activity of memory Th2 cells is confirmed by increased secretion of IL-13 and IL-10 following along with decreased IFN $\gamma$  production in response to specific fungal allergen stimulation of blood cells compared to the patients with asthma and the control group. A positive correlation was revealed between the count of memory Th2 cells and the levels of sIgE, IgE, TARC, a negative correlation – with FEV1.

*Conclusion.* Thus, exposure to *A. fumigatus* significantly enhances the activity of memory Th2 cells in patients with asthma which can lead to severe disease course and development of allergic bronchopulmonary aspergillosis. The features of the immune response identified dictate a need for a personalized approach to choose therapeutic tactics in such patients.

**Keywords:** allergic bronchopulmonary aspergillosis, asthma, memory T-helper cells, chemokines, immune response, *A.fumigatus*.

## 1 Введение

2 Микроскопические грибы, имеющие широкое распространение в  
3 окружающей среде, являются представителями отдельного царства живых  
4 существ, для которых характерно разнообразное влияние на организм  
5 человека. Особое внимание уделяют плесневым термотолерантным  
6 микромецетам, способным жить при температуре +37<sup>0</sup>С, таким как *A.fumigatus*  
7 [23]. Грибы рода *Aspergillus* – наиболее значимые микромицеты, которые  
8 поражают дыхательные пути. При неэффективном удалении из  
9 респираторного тракта грибковые конидии могут прорасти, образуя гифы,  
10 которые, в свою очередь, запускают каскад иммунных реакций, приводящих к  
11 широкому спектру клинических проявлений от колонизации до инвазивного  
12 аспергиллеза. У больных с хроническими полостями в легких *A.fumigatus*  
13 может стать этиологическим агентом хронического аспергиллеза легких, а у  
14 больных с атопией – участвовать в развитии микогенной сенсибилизации и  
15 аллергического бронхолегочного аспергиллеза [31].

16 Аллергический бронхолегочный аспергиллез – хроническое заболевание  
17 лёгких, обусловленное гиперчувствительностью к грибам рода *Aspergillus*,  
18 которое является наиболее значимым проявлением аллергического  
19 аспергиллеза и встречается во всем мире. Это потенциально деструктивное  
20 заболевание недооценено клиницистами на современном этапе. Чаще всего  
21 аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) развивается у  
22 предрасположенных пациентов с бронхиальной астмой (БА) и  
23 муковисцидозом, утяжеляя течение основного заболевания, приводя к  
24 развитию бронхоэктазов и дыхательной недостаточности [12,14].

25 В то время как многочисленные современные исследования посвящены  
26 патогенетическим механизмам, которые лежат в основе тяжелой БА, работ,  
27 направленных на оценку иммунного ответа при развитии БА с  
28 сенсибилизацией к *A.fumigatus* и АБЛА, недостаточно [10,18]. Исследования  
29 нарушений местных и системных иммунорегуляторных механизмов,  
30 приводящих к гиперпродукции слизи, закупорке дыхательных путей и

31 формированию бронхоэктазов, будут способствовать выявлению АБЛА на  
32 более ранних этапах и разработке новых терапевтических стратегий. Поэтому  
33 целью исследования явилась оценка особенностей регуляции иммунного  
34 ответа больных аллергическим бронхолегочным аспергиллезом и  
35 бронхиальной астмой с сенсibilизацией к *A. fumigatus*.

#### 36 **Материалы и методы.**

37 В микологической клинике ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова  
38 Минздрава России провели проспективное исследование, в которое включили  
39 41 больного бронхиальной астмой. Контрольную группу составили 16 условно  
40 здоровых людей, сопоставимых по возрасту и полу, без аллергических  
41 заболеваний в анамнезе.

42 Все участники подписали добровольное информированное согласие на  
43 проведение исследования. Протокол обследования пациентов и практически  
44 здоровых людей отвечал этическим нормам Хельсинской декларации и был  
45 одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Северо-Западный  
46 государственный медицинский университета имени И.И. Мечникова» МЗ РФ  
47 (Протокол № 2 от 03.02.2021). Все пациенты соответствовали общим  
48 критериям включения в исследование: диагноз «БА», тяжелое/среднетяжелое  
49 течение, возраст 18 лет и старше, отсутствие острых респираторных  
50 заболеваний в течение предшествующих 4 недель. Критериями включения в  
51 контрольную группу были: отсутствие респираторной патологии,  
52 хронической инфекционной и неинфекционной патологии, гельминтной  
53 инвазии, декомпенсированных состояний, отрицательный аллергологический  
54 анамнез, неотягощенная по БА и другим аллергическим заболеваниям  
55 наследственность.

56 Уровни общего IgE (Полигност, Россия), специфических IgE (sIgE)  
57 (АлкорБио, Россия), TARC (R&D, США) в сыворотке крови определяли с  
58 помощью иммуноферментных тест-систем в соответствии с рекомендациями  
59 фирмы-производителя.

60 Клинический анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе  
61 DxH-800 (Beckman Coulter, США). Иммунофенотипирование лимфоцитов  
62 периферической крови было выполнено методом 6-цветного  
63 цитофлуориметрического анализа с использованием проточного цитометра  
64 Navios™ (Beckman Coulter, США). Подготовку образцов периферической  
65 крови и настройку цитофлуориметра проводили в соответствии с  
66 национальными рекомендациями [8]. Субпопуляцию Т-хелперов (Th) клеток  
67 памяти выделяли по фенотипу CD4+CD45RA– и анализировали уровень  
68 экспрессии на них следующих хемокиновых рецепторов: CCR4, CCR6,  
69 CXCR3 и CXCR5. Окраску антителами проводили в соответствии с  
70 рекомендациями производителей. В работе использовали моноклональные  
71 антитела, конъюгированных с флуорохромами: CD4/PerCP, CD45RA/PE/Cy7,  
72 CD183(CXCR3)/AlexaFluor488, CD194(CCR4)/PE, CD196(CCR6)/PE-  
73 Dazzle™594 и CD185(CXCR5)/Alexa Fluor 647 (Biolegend, США). После  
74 внесения антител образцы тщательно перемешивали, затем инкубировали при  
75 комнатной температуре 15 минут в защищенном от света месте. По  
76 завершении инкубации вносили 500 мкл лизирующего раствора VersaLyse  
77 Lysing Solution (Beckman Coulter, США) с добавлением фиксирующего  
78 раствора Fixative Solution ЮTest 3 (12,5 мкл) (Beckman Coulter, США). Через  
79 10 минут инкубации при комнатной температуре в темноте образцы отмывали  
80 в 4 мл фосфатно-солевого буфера (ФСБ) 5 минут при 1500 оборотах в минуту,  
81 удаляли надосады и восстанавливали лейкоцитарную взвесь в 400 мкл ФСБ.  
82 При цитометрическом анализе для каждого из образцов набирали не менее  
83 5000 лимфоцитов. Полученные результаты анализировали при помощи  
84 программного обеспечения Navios™ Software v1.2 (Beckman Coulter, США) и  
85 выражали в виде % позитивных клеток от искомой популяции. Оценку Т-  
86 регуляторных лимфоцитов (Treg) проводили методом проточной цитометрии  
87 при окрашивании лимфоцитов периферической крови моноклональными  
88 антителами CD4/FITC, CD127/PC7 и CD25/PE (Beckman Coulter, США).



89 Подготовку проб осуществляли в тех же условиях, что и при б-цветном  
90 анализе.

91 С целью изучения антиген-специфической продукции IFN $\gamma$ , IL-10 и IL-13  
92 к 100 мкл разведенной в 5 раз крови добавляли 100 мкл аллергена *A.fumigatus*  
93 (АлкорБио, Россия), в конечной концентрации 10 мкг/мл. Для разведения  
94 крови и аллергена использовали полную питательную среду (ППС): среда  
95 RPMI 1640 с добавлением L-глутамина (Биолот, Россия), 200 мкг/мл  
96 гентамицина и 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Биолот, Россия). В  
97 предварительных экспериментах были определены оптимальная доза  
98 аллергена и сроки культивирования клеток. Для спонтанной продукции  
99 цитокинов в лунки 96-луночного планшета вносились по 100 мкл ППС. Через  
100 144 часа инкубации образцов при 37°C в атмосфере 5% CO $_2$  в CO $_2$ -инкубаторе  
101 (МСО-5А Sanyo™, Япония) отбирали надосадочную жидкость,  
102 аликвотировали и хранили при -20°C до проведения анализа. Содержание  
103 цитокинов в полученных образцах определяли методом иммуноферментного  
104 анализа с использованием коммерческих тест-систем (Вектор-Бест, Россия) и  
105 (R&D, США) в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя.

106 Для изучения функции внешнего дыхания использовали спирометрию  
107 методом выполнения петли «объем-поток» с компьютерной обработкой  
108 результатов исследования. Учитывали следующие показатели: объем  
109 форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), форсированная  
110 жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), индекс Тиффно. По показаниям  
111 выполняли компьютерную томографию (КТ) легких в режиме высокого  
112 разрешения.

113 Диагноз, степень тяжести и уровень контроля над течением БА  
114 устанавливали в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA  
115 (Global Initiative for Asthma, updated, 2022) [28]. При оценке контроля над  
116 симптомами БА ориентировались на жалобы, клинические проявления,  
117 данные спирометрии с проведением теста на обратимость. Также  
118 использовали опросник АСТ (Asthma Control Test), который является краткой

119 и доступной анкетой, содержит 5 вопросов с 5-бальной оценкой ответов.  
120 Сумма 25 баллов означают полный контроль БА, 20-24 - неполный контроль,  
121 19 баллов и меньше - указывает на отсутствие контроля. С помощью АСТ  
122 оценивали уровень контроля БА за последние 4 недели.

123 Для выявления микогенной сенсibilизации и аллергического  
124 бронхолегочного аспергиллеза (АБЛА) использовали рекомендации рабочей  
125 группы ISHAM (International Society for Human and Animal Mycology, 2013).  
126 Критериями микогенной сенсibilизации были: положительный кожный  
127 прик-тест ( $\geq 3$  мм) и/или выявление в сыворотке крови уровня специфического  
128 IgE к грибковому аллергену, соответствующего классу 1 и выше ( $\geq 0,35$   
129 МЕ/мл) [9].

130 Полученные в процессе исследования данные обрабатывали с  
131 помощью программной системы STATISTICA 10 (StatSoft, США).  
132 Нормальность распределения количественных данных проверяли с помощью  
133 критерия Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Изучаемые  
134 характеристики представляли медианами, нижним и верхним квартилями (Me  
135 ( $Q_{0,25}; Q_{0,75}$ ). Для оценки значимости различий использовали  
136 непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Для выявления  
137 корреляционных взаимосвязей между двумя количественными параметрами  
138 использовали непараметрический метод ранговой корреляции по Спирмену с  
139 вычислением коэффициента ранговой корреляции (r). Различия считали  
140 статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### 141 **Результаты.**

142 На основании результатов клинико-инструментального обследования  
143 больные БА были разделены на три группы: 16 больных БА без  
144 сенсibilизации к *A fumigatus* (БА Asp-) (женщин – 80,7%), 10 больных БА с  
145 сенсibilизацией к *A fumigatus* (БА Asp+) (женщин – 77,8%), 15 больных, у  
146 которых на фоне БА сформировался АБЛА (женщин – 80,2%). Контрольную  
147 группу составили 16 здоровых добровольцев (женщин – 75,0%). Группы не  
148 различались между собой по возрасту и полу (табл. 1).

149 Анализ спирометрических характеристик выявил, что показатель ОФВ1  
150 в группах больных АБЛА и БА *Asp+* был значимо ниже, чем у больных БА  
151 *Asp-* (65,0% (60,0 - 70,0) и 64,0% (56,5 - 81,5) vs 81,0 % (67,0 – 91,1);  $p=0,015$ ;  
152  $p=0,005$ , соответственно), что может быть связано с более выраженным  
153 воспалением стенки бронхов, и утяжелением течения БА при сочетании с  
154 сенсibilизацией к *A.fumigatus*. Статистически значимых различий по  
155 результатам заполнения опросника АСТ у больных исследуемых групп не  
156 установлено. Однако выявлена тенденция к снижению среднего балла по мере  
157 возрастания показателей, отражающих степень сенсibilизации к *A.fumigatus*  
158 (табл. 1).

159 Во всех исследуемых группах больных установлено статистически  
160 значимое повышение уровня общего IgE по сравнению с группой контроля  
161 ( $p<0,001$ ). Содержание общего IgE у больных АБЛА составило 2332,5 МЕ/мл  
162 (1147,0 - 4530,0) и было значимо выше, чем в группах больных БА *Asp+* (659,0  
163 МЕ/мл (300,0 - 700,0;  $p<0,001$ ) и БА *Asp-* (159,0 МЕ/мл (72,0 - 441,0);  $p<0,001$ ).  
164 Кроме того, данный показатель был значимо выше у больных БА *Asp+* по  
165 сравнению с пациентами БА *Asp-* ( $p=0,012$ ) (рис. 1А). Уровни sIgE к  
166 *A.fumigatus* различались между больными АБЛА и БА *Asp+* (2,23 МЕ/мл (1,10  
167 - 4,14) vs 0,72 МЕ/мл (0,50 - 1,60),  $p=0,019$ ) и значимо превышали показатели  
168 пациентов с БА *Asp-* (0,00 МЕ/мл (0,00 - 0,02);  $p<0,001$ ,  $p<0,001$ ,  
169 соответственно) (рис. 1Б).

170 Известно, что эозинофилы крови могут быть маркером эозинофильного  
171 воспаления в дыхательных путях у пациентов с БА, а эозинофилия является  
172 признанным прогностическим фактором обострения заболевания.  
173 Абсолютное число эозинофилов в группе больных АБЛА составило  $0,41 \times 10^9/\text{л}$   
174 (0,37 - 0,75) и было значимо выше по сравнению с показателями пациентов с  
175 БА *Asp-* ( $0,30 \times 10^9/\text{л}$  (0,07 - 0,43);  $p=0,023$ ) и контрольной группы ( $0,09 \times 10^9/\text{л}$   
176 (0,06 - 0,20);  $p<0,001$ ). Показатели в группах больных БА *Asp+* и БА *Asp-* не  
177 различались между собой ( $p = 0,36$ ) (рис. 1В).

178 Учитывая данные о патогенетических механизмах взаимодействия  
179 *A.fumigatus* с эпителиальными клетками дыхательных путей больных БА, в  
180 нашем исследовании был определен уровень тимус-ассоциированного  
181 регуляторного хемокина (TARC, от англ. «thymus and activation-regulated  
182 chemokine»), который участвует в детерминации иммунного ответа в сторону  
183 Т2-звена [16]. Установлено существенное повышение показателей TARC во  
184 всех группах, по сравнению с группой контроля ( $p < 0,001$ ). Выявлены  
185 значимые различия содержания данного хемокина у больных АБЛА - 811,0  
186 пг/мл (686,5 - 1039,0) по сравнению с группой БА *Asp+* (425,0 пг/мл (295,0 -  
187 625,0);  $p = 0,011$ ) и БА *Asp-* (287,0 пг/мл (238,5,0 - 310,0);  $p < 0,001$ ). Кроме того  
188 уровень TARC был значимо выше у больных БА *Asp+* по отношению к  
189 пациентам БА *Asp-* ( $p = 0,027$ ) (рис. 1Г).

190 Важная роль TARC в прогрессировании аллергического воспаления у  
191 больных с микогенной сенсibilизацией подтверждена положительной  
192 корреляционной связью TARC с уровнем sIgE к *A.fumigatus* ( $r = 0,776$ ,  $p < 0,001$ ),  
193 общего IgE ( $r = 0,823$ ,  $p < 0,001$ ) и отрицательной с ОФВ1 ( $r = -0,552$ ,  $p < 0,001$ ).

194 Многочисленные современные исследования посвящены  
195 иммунологическим изменениям, которые лежат в основе патогенеза  
196 различных фенотипов тяжелой БА [1,2,3,7,19]. Однако работы направленные  
197 на определение различных клонов Т-хелперов у больных с сенсibilизацией к  
198 *Aspergillus* spp. немногочисленны [10,18]. В ходе нашего исследования мы  
199 определяли субпопуляционный состав лимфоцитов крови у пациентов с БА в  
200 зависимости от наличия сенсibilизации к *A.fumigatus* и развития АБЛА.  
201 Данные представлены в таблице 2. Значимых различий по количеству CD4+  
202 Т-хелперов между группами больных и группой контроля установлено не  
203 было. Пациенты всех групп имели достоверно более высокий процент  
204 CD4+CD45RA- Т-клеток памяти по сравнению с показателем группы  
205 контроля, что согласуется с результатами других авторов [11,32].

206 Установлено, что анализ экспрессии хемокиновых рецепторов позволяет  
207 судить не только о направлении миграции CD4+ Т-хелперов из кровотока, но

208 может выступать и в качестве одного из методических приемов для  
209 определения поляризации клеток в сторону того или иного клона [6]. В нашем  
210 исследовании все CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> Т-клетки памяти были разделены на CXCR5-  
211 негативные и CXCR5-позитивные клетки. Среди CXCR5-негативных  
212 CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> Т-хелперов памяти были выявлены следующие Th с  
213 различными фенотипами: Th1 (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>-</sup>), Th2 (CXCR5<sup>-</sup>  
214 CXCR3<sup>-</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>+</sup>), «классические» Th17 (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>-</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>) и  
215 «неклассические» Th17.1 (CXCR5<sup>-</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>-</sup>).

216 Анализ субпопуляционного состава Т-клеток памяти не выявил  
217 достоверных различий по числу Th1 и «классических» Th17 между группами,  
218 включенными в исследование (табл. 2). Установлено, что у всех групп  
219 больных БА в периферической крови относительное количество Th2 значимо  
220 превышало показатели здоровых лиц (p=0,006, p<0,001, p<0,001,  
221 соответственно). Содержание Th17.1 было значимо ниже в группах больных с  
222 сенсibilизацией к *A.fumigatus* по сравнению с контрольными показателями  
223 (p=0,001, p=0,016, соответственно). Особенностью пациентов с АБЛА явилось  
224 значимо более высокое число Th2 - 11,10% (8,80 - 13,00) по сравнению с  
225 больными БА Asp+ (8,35% (7,40 - 9,80); p=0,035) и БА Asp- (8,05% (5,75 -  
226 10,10); p=0,017). Выявлена положительная корреляционная связь между  
227 количеством Th2 и уровнями IgE (r=0,375, p=0,017), sIgE к *A.fumigatus*  
228 (r=0,339, p=0,030), TARC (r = 0,577, p=0,001) и отрицательная корреляционная  
229 связь с ОФВ1 (r=-0,381, p=0,022) и числом Th17.1 (r=-0,335, p=0,032).

230 Важной субпопуляцией Т-хелперов являются фолликулярные Т-  
231 хелперы (Tfh) CXCR5-позитивные клетки. По аналогии с традиционными Th,  
232 среди CXCR5<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup>Т-клеток памяти были выделены: Tfh1  
233 (CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>-</sup>), Tfh2 (CXCR3<sup>-</sup>CCR6<sup>-</sup>CCR4<sup>+</sup>), Tfh17 (CXCR3<sup>-</sup>  
234 CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>-</sup>), Tfh17.1 (CXCR5<sup>+</sup>CXCR3<sup>+</sup>CCR6<sup>+</sup>) [6]. Процентное содержание  
235 Tfh2 у больных обеих групп с сенсibilизацией к *A.fumigatus* было значимо  
236 выше по сравнению с контрольными значениями (p=0,049; p=0,01,  
237 соответственно). У пациентов с АБЛА установлено более высокое число Tfh2

238 2,81% (2,00 - 3,70) по сравнению с больными БА *Asp*<sup>-</sup> (1,80% (1,60 - 2,85);  
239  $p=0,021$ ). Установлены снижение числа Tfh1 у больных БА *Asp*<sup>-</sup> по сравнению  
240 с показателями больных БА *Asp*<sup>+</sup> ( $p=0,031$ ) и контрольной группы ( $p=0,040$ ).  
241 У больных БА *Asp*<sup>+</sup> выявлено повышение количества Tfh17 по сравнению со  
242 значениями условно здоровых лиц ( $p=0,042$ ). Значимых различий в  
243 содержании Tfh17.1 между группами включенными в исследование  
244 установлено не было. Выявлена положительная корреляционная связь между  
245 количеством Tfh2 и уровнями IgE ( $r=0,383$ ,  $p=0,015$ ), sIgE к *A.fumigatus*  
246 ( $r=0,373$ ,  $p=0,016$ ) и TARC ( $r=0,380$ ,  $p=0,021$ ).

247 Установлено, что относительное количество CD4<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> Treg у  
248 пациентов с АБЛА, БА *Asp*<sup>+</sup> и БА *Asp*<sup>-</sup> достоверно превышало показатель  
249 контрольной группы (11,00 % (9,10 – 14,00), 10,50% (7,50 – 12,85) и 10,20%  
250 (7,00-12,15) vs 6,7% (5,75 -7,00);  $p<0,001$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,002$ , соответственно).  
251 Известно, что Treg играют важную роль в поддержании иммунного гомеостаза  
252 [27]. Однако значимых различий по числу Treg между исследуемыми  
253 группами больных не выявлено.

254 На заключительном этапе исследования провели сравнительный анализ  
255 уровней патогенетически значимых цитокинов, продуцируемых клетками  
256 цельной крови больных БА *Asp*<sup>-</sup> и АБЛА в ответ на инкубацию с аллергеном  
257 *A. fumigatus*. Для анализа цитокинового профиля проводили вычисления  
258 индекса стимуляции (ИС) как определение соотношения индуцированной  
259 продукции цитокинов к их спонтанной выработке. Установлено, что у  
260 здоровых доноров аллерген *A. fumigatus* активировал лимфоциты к продукции  
261 IFN $\gamma$ , но не к выработке IL-10 и IL-13 (табл. 3), что согласуется с результатами  
262 других авторов [18]. В группе больных АБЛА по сравнению с группой  
263 контроля были выявлены значимо более низкие уровни IFN $\gamma$  (15,0 пг/мл (10,0  
264 - 32,0) vs. 32,0 пг/мл (20,8 - 49,0);  $p=0,001$ ) и значения ИС (1,00 (0,98 - 1,37) vs.  
265 5,76 (2,14 - 11,01);  $p<0,001$ ) в ответ на индукцию грибковым аллергеном.  
266 Напротив, клетки крови больных АБЛА синтезировали более высокие уровни  
267 IL-10 (126,0 пг/мл (94,4 - 159,0) vs 21,2 пг/мл (10,0 - 36,0) и 24,5 пг/мл (22,0 -

268 32,5);  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ , соответственно) и IL-13 (104,0 пг/мл (72,4-250,0) vs  
269 44,5 пг/мл (42,0 - 56,0) и 59,0 пг/мл (38,4 - 59,6);  $p < 0,001$ ,  $p = 0,001$ ,  
270 соответственно) по сравнению с показателями больных БА *Asp*- и здоровых  
271 лиц. Следовательно, индексы стимуляции для IL-10 (4,96 (2,95 - 41,83) vs 0,58  
272 (0,25 - 1,55) и 1,14 (1,06 - 1,50);  $p = 0,001$ ,  $p = 0,001$ , соответственно) и IL-13 (3,67  
273 (2,08 - 6,56) vs 0,97 (0,84 - 1,10) и 1,09 (0,95 - 1,20);  $p < 0,001$ ,  $p = 0,001$ ,  
274 соответственно) значимо отличались от значений больных БА *Asp*- и  
275 контрольной группы.

276 В группе больных БА *Asp*- не было выявлено способности грибкового  
277 аллергена стимулировать клетки крови к выработке IL-10 и IL-13, так как  
278 показатели ИС не отличались от контрольных значений ( $p = 0,13$ ;  $p = 0,09$ ) (табл.  
279 3). Полученные данные могут свидетельствовать о выраженной активации  
280 клонов Т-лимфоцитов, специфичных к другим аэроаллергенам, но не к  
281 плесневым микромицетам, что подтверждает отсутствие у больных БА *Asp*-  
282 sIgE к *A.fumigatus*. Таким образом, антиген-специфическая стимуляция клеток  
283 крови больных АБЛА вызвала достоверно более высокую продукцию IL-10 и  
284 IL-13 и низкую выработку IFN $\gamma$  по сравнению со значениями в группе  
285 контроля и БА.

### 286 **Обсуждение.**

287 Опубликовано результаты исследований, согласно которым микогенная  
288 сенсibilизация ассоциирована с тяжелым течением БА, развитием  
289 бронхоэктазов и фиброза. [15, 26]. В работе Woolnough K.F. с соавт. показано,  
290 что уровень sIgE к термотолерантным нитчатым грибам, в частности к  
291 *A.fumigatus*, но не уровень общего IgE, был взаимосвязан с фиксированной  
292 обструкцией воздушного потока и рядом радиологических изменений у  
293 больных БА различной степени тяжести. Авторы сделали вывод о возможном  
294 риске повреждения легких у всех больных с сенсibilизацией к *A.fumigatus*  
295 независимо от того, соответствуют ли они критериям АБЛА [33]. Сходные  
296 результаты были получены нами ранее. Показано, что сенсibilизация к *A*  
297 *fumigatus*, но не к другим аэроаллергенам, существенно ухудшает течение БА

298 [4]. В настоящем исследовании у больных с сенсibilизацией к *A.fumigatus*  
299 установлены худшие показатели ОФВ1 и результатов АСТ. Выявлена  
300 отрицательная корреляционная связь между уровнями sIgE к *A.fumigatus* и  
301 показателем ОФВ1 ( $r=-0,605$ ,  $p<0,001$ ). Полученные данные указывают на  
302 более выраженное воспаление и возможность деструктивных изменений в  
303 легких у больных БА с сенсibilизацией к *A.fumigatus*, что диктует  
304 необходимость дальнейшего детального изучения особенностей  
305 иммунопатогенеза микогенной аллергии.

306 На современном этапе известно, что иммунные реакции, возникающие в  
307 дыхательных путях при контакте с грибковыми аллергенами, вовлекают  
308 тучные клетки, базофилы, эозинофилы, врожденные лимфоидные клетки, М2-  
309 поляризованные макрофаги и Th2 [29]. Вдыхаемые грибковые аллергены  
310 поглощаются дендритными клетками (DCs). Активированные DCs мигрируют  
311 в дренирующие лимфатические узлы, где они контролируют  
312 дифференцировку CD4+ Т-клеток [25]. Дифференцировка CD4+ Т-клеток в  
313 Th2 зависит от TSLP, TARC/CCL17 и MCD/CCL22. Появляется все больше  
314 доказательств того, что именно TARC играет важную роль в патогенезе  
315 аллергических реакций [16]. Так установлено более высокое содержание  
316 TARC в сыворотке крови у пациентов с БА по сравнению с контрольной  
317 группой. Обращает внимание, что концентрация хемокина увеличивалась с  
318 возрастом [17]. Yormaz B с соавт. сообщили, что сывороточные уровни TARC  
319 можно использовать в качестве биомаркеров эозинофильного фенотипа БА  
320 [35].

321 В соответствии с ранее опубликованными данными [5], мы выявили  
322 значимые различия уровней TARC у больных АБЛА и больных БА с  
323 сенсibilизацией к *A.fumigatus* по сравнению с показателями больных группы  
324 сравнения. Положительная корреляционная связь TARC с уровнями общего  
325 IgE, sIgE к *A.fumigatus* и отрицательная с ОФВ1 подтверждает важное  
326 значение данного хемокина в развитии аллергического воспаления у больных



327 с микогенной сенсibilизацией и указывает на возможность его  
328 использования в дифференциальной диагностике.

329 После активации аллергеном Т-клетки разделяются на популяции  
330 эффекторных Т-клеток и Т-клетки памяти, последние подразделяются на  
331 CCR7<sup>-</sup> эффекторные Т-клетки памяти (Т<sub>em</sub>) и CCR7<sup>+</sup> центральные Т-клетки  
332 памяти (Т<sub>cm</sub>) [6]. Считают, что Т-клетки памяти связаны с хроническими  
333 воспалительными заболеваниями [21,22]. Однако конкретные субпопуляции  
334 Т-клеток памяти человека, ответственные за аллергическое воспаление при  
335 различных эндотипах БА, недостаточно хорошо охарактеризованы. Поэтому  
336 крайне важно определить, какие субпопуляции Т-клеток памяти, связаны с  
337 хроническим воспалением в легких у больных с сенсibilизацией к  
338 *A.fumigatus*. Можно предположить, что Т-клетки больных БА с  
339 сенсibilизацией к *A.fumigatus* обладают уникальными фенотипами и  
340 функциями, которые могут поддерживать хроническое воспаление в нижних  
341 дыхательных путях.

342 В ходе исследования было выявлено значительное увеличение  
343 циркулирующих CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup> Т-клеток памяти у всех больных БА по  
344 сравнению с группой контроля. Известно, что CD4<sup>+</sup>Т-клетки памяти могут  
345 быстро пролиферировать в ответ на повторное проникновение  
346 специфического антигена и приобретать эффекторный фенотип с секрецией  
347 цитокинов и хемокинов [24]. Следовательно, долгоживущие Т-клетки памяти,  
348 обнаруженные в крови пациентов с БА, могут играть важную роль в  
349 хроническом воспалении нижних дыхательных путей в ответ на различные  
350 аллергены. Ранее сообщалось об увеличении числа CCR4<sup>+</sup> Th2 у пациентов с  
351 БА [20, 32]. Анализ наших данных установил, что у всех пациентов,  
352 включенных в исследование, повышено число циркулирующих Th2 клеток  
353 памяти по сравнению с контрольной группой. У больных АБЛА число Th2  
354 клеток памяти было выше, чем у больных БА с сенсibilизацией и без к  
355 *A.fumigatus*. Напротив, установлено снижение числа Th17.1 у больных АБЛА

356 и БА с сенсibilизацией к *A.fumigatus* по сравнению с показателями условно  
357 здоровых добровольцев.

358 Известно, что после активации Th2 продуцируют ряд  
359 провоспалительных цитокинов: IL-4, IL-13, IL-5 и IL-9. За пролиферацию  
360 аллерген-специфических В-клеток и переключение изотипов  
361 иммуноглобулинов на IgE класс отвечают IL-4 и IL-13. Главный цитокин Th2,  
362 IL-13, индуцирует метаплазию бокаловидных клеток, фиброз и  
363 гиперреактивность бронхов, и в сочетании с IL-5, способствует пролиферации  
364 и выживанию эозинофилов в дыхательных путях [16]. В нашем исследовании,  
365 усиление активности Th2 клеток памяти у пациентов с АБЛА подтверждает  
366 повышение секреции IL-13 на фоне снижения выработки IFN $\gamma$  в ответ на  
367 специфическую стимуляцию клеток крови грибковым аллергеном по  
368 сравнению с группой контроля и больными БА. Полученные данные  
369 согласуются с ранее представленными результатами в другом исследовании.  
370 Показано, что у пациентов с АБЛА наблюдалось увеличение индуцированных  
371 *Aspergillus* spp. IL-5 и IL-13 и снижение продукции IFN $\gamma$  по сравнению со  
372 здоровым контролем [10]. Установленная нами положительная  
373 корреляционная связь между количеством Th2 клетками памяти и уровнями  
374 sIgE, IgE, TARC и отрицательная с ОФВ1 подтверждает клиническую  
375 значимость данного показателя у пациентов с микогенной сенсibilизацией.  
376 Значимые различия по числу CXCR3<sup>+</sup> Th1 и «классических» CCR6<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>  
377 Th17 в крови пациентов и контрольных субъектов не были выявлены, что  
378 совпадает с результатами других авторов [32].

379 После активации антигеном CXCR5<sup>+</sup> В-лимфоциты мигрируют в  
380 первичные фолликулы лимфатических узлов, где происходит переключение  
381 изотипа и «созревание» аффинитета иммуноглобулинов при участии  
382 фолликулярных дендритных клеток и Tfh. Отличительной чертой Tfh является  
383 экспрессия CXCR5. Считается, что Tfh2 легко вступают в контакт с В-  
384 клетками для активации через CXCL13, лиганд CXCR5, секретируемый  
385 различными клетками, включая фолликулярные дендритные клетки,

386 эндотелиальные клетки, а также клетки Tfh [13]. Опубликованы сведения о  
387 связи дифференцировки Th2 и Tfh2, согласно которым они вносят вклад в  
388 патогенез аллергического воспаления, опосредованного IgE [19,30]. В  
389 последнее время появляются новые данные о том, что Tfh, а не Th2, играют  
390 решающую роль в контроле продукции IgE [34]. В нашем исследовании  
391 наибольшее число Tfh2 установлено у больных АБЛА, а также у больных  
392 бронхиальной астмой с сенсибилизацией к *A.fumigatus* и выявлена  
393 положительная корреляционная связь между количеством Tfh2 и уровнями  
394 IgE, sIgE к *A.fumigatus* и TARC, но отсутствовала связь с показателями  
395 функции дыхания.

396 Известно, что CD4+ Т-лимфоциты содержат субпопуляцию Т-  
397 регуляторных клеток, обеспечивающих аутоотолерантность к собственным  
398 антигенам и сдерживающих чрезмерную активность клеток иммунной  
399 системы. Адаптивные регуляторные Т-хелперы образуются при иммунном  
400 ответе и служат фактором, ограничивающим иммунный ответ на его  
401 заключительных стадиях за счет действия CTLA-4 и продукции  
402 противовоспалительных цитокинов. Адаптивные Treg характеризуются  
403 экспрессией TGF- $\beta$ , IL-10 и IL-4. TGF- $\beta$  и IL-10 способствуют подавлению  
404 иммунного ответа, опосредованного функциональной активностью Th1 и Th2  
405 [27]. В настоящем исследовании было установлено, что наиболее высокое  
406 число Treg выявлено у больных АБЛА, что согласуется с повышенной  
407 продукцией IL-10 у данной категории больных. Усиление активности Treg  
408 может отражать степень противодействия хронической воспалительной  
409 реакции, поддерживаемой грибковыми аллергенами в том случае, когда  
410 термотолерантные грибы способны длительно сохраняться в дыхательных  
411 путях [29].

## 412 **Заключение**

413 Результаты проведенного исследования соответствуют сформированным  
414 ранее представлениям о доминировании эозинофильного воспаления,

415 развивающегося в дыхательных путях больных БА с сенсibilизацией к  
416 *A.fumigatus*. Положительная корреляционная связь числа циркулирующих Th2  
417 и Tfh2 с активностью синтеза плазматическими клетками IgE и sIgE к  
418 *A.fumigatus*, а также уровнями TARC в сыворотке крови указывает на важную  
419 роль этих клеток в патогенезе микогенной аллергии. Учитывая все более  
420 широкое использование антицитокиновой биологической терапии у больных  
421 БА, изучение патогенетических механизмов БА с сенсibilизацией к  
422 *A.fumigatus* необходимо для дальнейшей разработки терапевтических  
423 моноклональных антител, применение которых повысит уровень контроля БА  
424 и позволит снизить объем системной стероидной терапии.

**ТАБЛИЦЫ**

**Таблица 1. Характеристика больных бронхиальной астмой, ме (q<sub>0,25</sub> - q<sub>0,75</sub>)**

**Table 1. Characteristics of patients with bronchial asthma, ме (q<sub>0,25</sub> - q<sub>0,75</sub>)**

Показатель Parameters	Группа 1 Group 1 n=16	Группа 2 Group 2 n=16	Группа 3 Group 3 n=10	Группа 4 Group 4 n=15	Достоверно значимые различия p value
	Контрольная группа Control group	БА без сенсibilизации к <i>A.fumigatus</i>  BA without sensitization to <i>A.fumigatus</i>	БА с сенсibilизацией к <i>A.fumigatus</i>  BA with sensitization to <i>A.fumigatus</i>	АБЛА  АВРА	
Возраст, лет Age, years	41,0  (39,0 - 44,5)	50,0  (37,0 - 56,5)	46,0  (35,0 - 66,0)	49,0  (41,0 - 64,0)	
ОФВ1, %	-	81,0	64,0	65,0	p <sub>2-3</sub> = 0,005

от должного		(67,0 – 91,1)	(56,5 - 81,5)	(60,0 - 70,0)	$p_{2-4} = 0,015$
FEV1, %					
АСТ (баллы)		15,0	13,5	13,0	
АСТ, score	-	(10,0 - 19,0)	(10,5 - 20,0)	(12,0 - 14,0)	

*Примечание.  $p_{2-3}$  – статистическая значимость различий между группами БА без сенсibilизации к A.fumigatus и БА с сенсibilизацией к A.fumigatus;  $p_{2-4}$  – статистическая значимость различий между группами БА без сенсibilизации к A.fumigatus и АБЛА (U-критерий Манна–Уитни).*

*Note.  $p_{2-3}$  – statistical significance of differences between BA without and with sensitization to A.fumigatus;  $p_{2-4}$  – statistical significance of differences between BA without sensitization to A.fumigatus and ABPA groups (Mann-Whitney U–test).*

**Таблица 2. Относительное содержание субпопуляций t-хелперов среди клеток с фенотипом cd45ra<sup>-</sup> у больных бронхиальной астмой, ме (q<sub>0,25</sub> - q<sub>0,75</sub>)**

**Table 2. Percentage of T-helper subpopulations out of CD45RA<sup>-</sup> cells in patients with bronchial asthma, ме (q<sub>0,25</sub> - q<sub>0,75</sub>)**

Популяции Т-хелперов T-helper cell subsets	Содержание клеток cell count				Достоверно значимые различия p value
	Группа 1 Group 1 n=16	Группа 2 Group 2 n=16	Группа 3 Group 3 n=10	Группа 4 Group 4 n=15	
	Контрольная группа Control group	БА без сенсibilизации к <i>A.fumigatus</i>  BA without sensitization to <i>A.fumigatus</i>	БА с сенсibilизацие й к <i>A.fumigatus</i>  BA with sensitization to <i>A.fumigatus</i>	АБЛА АВРА	
Th (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ), %	46,0 (42,5 - 49,5)	49,5 (43,0 - 58,0)	50,0 (45,0 - 54,0)	48,0 (43,0 - 55,0)	
Th (CD45RA-CD4 <sup>+</sup> ),	41,75 (37,75 - 52,75)	53,10 (47,70 - 60,90)	54,30 (44,50 - 61,20)	49,10 (44,20 - 65,00)	p <sub>1-2</sub> = 0,012 p <sub>1-3</sub> = 0,013

%					p <sub>1-4</sub> = 0,012
Th1 (CXCR5 <sup>-</sup> CXCR3 <sup>+</sup> ), %	8,35 (6,95 - 11,90)	9,00 (7,15 - 12,15)	11,90 (7,30 - 18,00)	8,50 (5,60 - 9,00)	
Th17 (CXCR5 <sup>-</sup> CCR6 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ), %	13,35 (12,35 - 14,90)	14,45 (11,60 - 17,20)	12,45 (9,70 - 15,70)	13,70 (12,60 - 15,60)	
Th2 (CXCR5 <sup>-</sup> CCR4 <sup>+</sup> ), %	5,65 (4,30 - 6,30)	8,05 (5,75 - 10,10)	8,35 (7,40 - 9,80)	11,10 (8,80 - 13,00)	p <sub>1-2</sub> = 0,006 p <sub>1-3</sub> < 0,001 p <sub>1-4</sub> < 0,001 p <sub>2-4</sub> = 0,017 p <sub>3-4</sub> = 0,035
Th17.1 (CXCR5 <sup>-</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> ), %	14,75 (12,65 - 18,20)	14,65 (9,20 - 18,35)	8,95 (7,40 - 10,90)	11,10 (9,92 - 14,50)	p <sub>1-3</sub> = 0,001 p <sub>1-4</sub> = 0,016



Tfh1 (CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> ), %	3,05 (2,45 - 4,30)	2,55 (1,60 - 3,10)	3,45 (2,60 - 3,90)	3,10 (2,10 - 3,50)	p <sub>1-2</sub> = 0,040 p <sub>2-3</sub> = 0,031
Tfh2 (CXCR5 <sup>+</sup> CCR4 <sup>+</sup> ), %	1,95 (1,55 - 2,65)	1,80 (1,60 - 2,85)	3,15 (1,80 - 4,30)	2,81 (2,00 - 3,70)	p <sub>1-3</sub> = 0,049 p <sub>1-4</sub> = 0,011 p <sub>2-4</sub> = 0,021
Tfh17 (CXCR5 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> ), %	1,45 (1,10 - 2,00)	1,55 (1,20 - 2,00)	2,15 (1,80 - 2,70)	1,50 (0,70 - 2,40)	p <sub>1-3</sub> = 0,042
Tfh17.1 (CXCR5 <sup>+</sup> CXCR3 <sup>+</sup> CCR6 <sup>+</sup> ), %	1,40 (1,10 - 2,10)	1,40 (1,10- 2,00)	1,45 (1,30- 1,80)	1,90 (1,40 - 2,20)	

Примечание. p<sub>1-2</sub> – статистическая значимость различий между группами БА без сенсibilизации к *A.fumigatus* и контролем; p<sub>1-3</sub> – статистическая значимость различий между группами БА с сенсibilизацией к *A.fumigatus* и контролем; p<sub>1-4</sub> – статистическая значимость различий между группами АБЛА и контролем; p<sub>2-3</sub> – статистическая значимость различий между группами БА без сенсibilизации к *A.fumigatus* и БА с сенсibilизацией к *A.fumigatus*; p<sub>2-4</sub> –

*статистическая значимость различий между группами БА без сенсibilизации к A.fumigatus и АБЛА;  $p_{3-4}$  – статистическая значимость различий между группами БА с сенсibilизацией к A.fumigatus и АБЛА (U-критерий Манна–Уитни).*

*Note.  $p_{1-2}$  – statistical significance of differences between BA without sensitization to A.fumigatus and control groups;  $p_{1-3}$  – statistical significance of differences between BA with sensitization to A.fumigatus and control groups;  $p_{1-4}$  – statistical significance of differences between ABPA and control groups;  $p_{2-3}$  – statistical significance of differences between BA without vs. with sensitization to A.fumigatus;  $p_{2-4}$  – statistical significance of differences between BA without sensitization to A.fumigatus and ABPA groups;  $p_{3-4}$  – statistical significance of differences between BA with sensitization to A.fumigatus and ABPA groups (Mann-Whitney U–test).*

**Таблица 3. Показатели спонтанной и антиген-стимулированной продукции цитокинов у больных бронхиальной астмой без сенсibilизации к *A. Fumigatus* и абла, ме (q<sub>0,25</sub>- q<sub>0,75</sub>)**

**Table 3. Parameters of spontaneous and antigen-stimulated cytokine production in patients with bronchial asthma without sensitization to *A.fumigatus* and abpa, ме (q<sub>0,25</sub>- q<sub>0,75</sub>)**

Показатель Parameters	Группы Groups			Достоверно значимые различия  p value
	Контроль ная группа Control group n=16	БА без сенсibilизации к <i>A.fumigatus</i>  BA without sensitization to <i>A.fumigatus</i>  n=16	АБЛА  АВРА  n=15	
IFN-γ спонтанный, пг/мл IFN-γ spontaneous, pg/ml	7,7 (3,45 - 10,35)	7,3 (5,0 - 19,4)	13,4 (6,0 - 18,8)	—
IFN-γ <i>A.fumigatus</i> , пг/мл IFN-γ <i>A.fumigatus</i> , pg/ml	32,0 (20,8 - 49,0)	21,0 (16,0 - 32,0)	15,0 (10,0 - 32,0)	*p = 0,001

ИС IFN- $\gamma$ IS IFN- $\gamma$	5,76 (2,14 - 11,01)	1,87 (1,18 - 5,83)	1,00 (0,98 - 1,37)	* p < 0,001 ** p = 0,026 # p = 0,049
IL-10 спонтанный, пг/мл IL-10 spontaneous,pg/ml	19,5 (16,0 - 28,5)	23,2 (17,4 - 45,0)	22,0 (6,4 - 42,0)	—
IL-10 <i>A.fumigatus</i> , пг/мл IL-10 <i>A.fumigatus</i> , pg/ml	24,5 (22,0 - 32,5)	21,2 (10,0 - 36,0)	126,0 (94,4 - 159,0)	* p < 0,001 ** p < 0,001
ИС IL-10 IS IL-10	1,14 (1,06 - 1,50)	0,58 (0,25 - 1,55)	4,96 (2,95 - 41,83)	* p = 0,001 ** p = 0,001
IL-13 спонтанный, пг/мл IL-13 spontaneous, pg/ml	53,0 (40,0 - 61,2)	52,1 (42,0 - 54,1)	38,2 (31,8 - 52,0)	—
IL-13 <i>A.fumigatus</i> , пг/мл	59,0 (38,4 - 59,6)	44,5 (42,0 - 56,0)	104,0 (72,4 - 250,0)	* p = 0,001 ** p = < 0,001

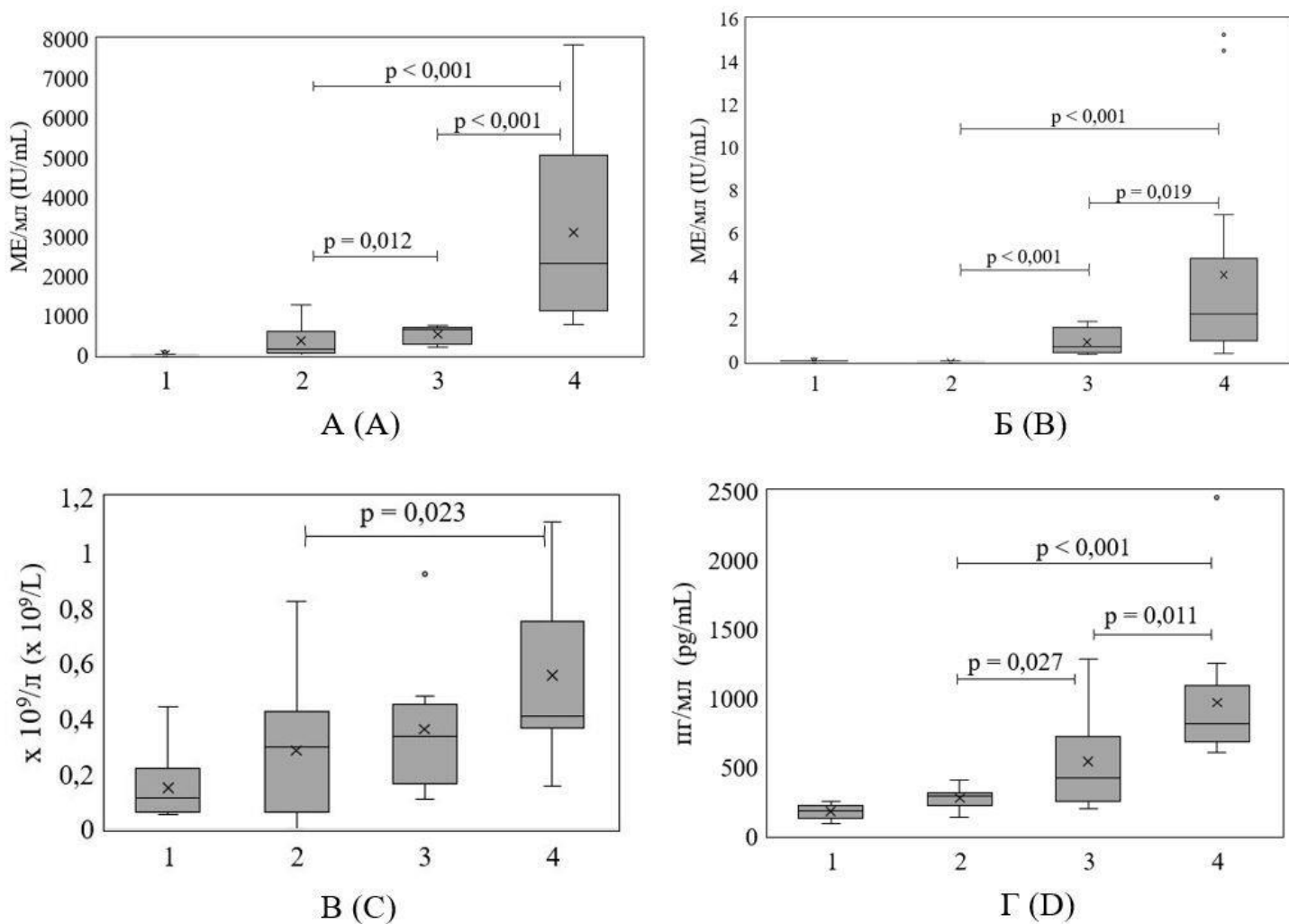
IL-13 <i>A.fumigatus</i> , pg/ml				
ИС IL-13	1,09	0,97	3,67	*p = 0,001
IS IL-13	(0,95 - 1,20)	(0,84 - 1,10)	(2,08 - 6,56)	**p = < 0,001

*Примечание.* \*p – статистическая значимость различий между группами АБЛА и контролем; \*\*p – статистическая значимость различий между группами АБЛА и БА без сенсibilизации к *A.fumigatus*; #p - статистическая значимость различий между группами БА без сенсibilизации к *A.fumigatus* и контролем (U-критерий Манна–Уитни).

*Note.* \*p - statistical significance of differences between ABPA and control groups; \*\*p – statistical significance of differences between ABPA and BA without sensitization to *A.fumigatus* groups; #p - statistical significance of differences between BA without sensitization to *A.fumigatus* and control groups (Mann-Whitney U-test).

## РИСУНКИ

**Рисунок 1. Уровни общего IgE, sIgE, TARC и количество эозинофилов в крови у больных бронхиальной астмой, Me (Q0,25- Q0,75)**  
**Figure 1. Serum levels of total IgE, sIgE, TARC and blood eosinophil count in patients with bronchial asthma, Me (Q0.25-Q0.75).**



*Примечание. Показатели общего IgE (ME/мл) (A), sIgE (ME/мл) (B), количества эозинофилов в крови ( $\times 10^9/\text{л}$ ) (C), TARC (пг/мл) (Г) у здоровых людей (группа 1), больных БА без сенсibilизации к *A.fumigatus* (группа 2), больных БА с сенсibilизацией к *A.fumigatus* (группа 3) и АБЛА (группа 4) p – достоверность различий между группами (U-критерий Манна–Уитни).*

*Note. Serum level of total IgE (IU/ml) (A), sIgE (IU/ml) (B), count of blood eosinophils ( $\times 10^9/\text{L}$ ) (C), TARC (pg/ml) (D) in healthy subjects (group 1), BA*

*patients without sensitization to A.fumigatus (group 2), BA patients with sensitization to A.fumigatus (group 3) and ABLA (group 4)*  
*p - significant differences between groups (Mann-Whitney U-test).*

## ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ\_МЕТАДААННЫЕ

### Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

**Козлова Яна Игоревна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова» Санкт-Петербург, Россия; Почтовый адрес: 194291, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба 1/28; Тел.: (812) 303-51-40, Факс: (812) 510-62-77; e-mail: kozlova510@mail.ru

**Kozlova Yana Igorevna** – Candidate of Medical Sciences (PhD), Assistant Professor of Department of clinical mycology, allergy and immunology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St.Petersburg, Russia; Address: 194291, St. Petersburg, Santiago-de-Cuba str. 1/28; Phone: (812) 303-51-40, Fax: (812) 510-62-77; e-mail: [kozlova510@mail.ru](mailto:kozlova510@mail.ru)

### Блок 2. Информация об авторах

**Фролова Екатерина Васильевна** – кандидат медицинских наук, заведующая НИЛ

**Frolova Ekaterina Vasilievna** – Candidate of Medical Sciences (PhD), Head of the Laboratory

**Кудрявцев Игорь Владимирович** – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией

**Kudryavtsev Igor Vladimirovich** – Candidate of Biological Sciences (PhD), Head of the Laboratory

**Учеваткина Александра Евгеньевна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник



**Uchevatkina Alexandra Evgenievna** – Candidate of Medical Sciences (PhD),  
Senior Researcher

**Филиппова Лариса Вячеславовна** – кандидат медицинских наук, старший  
научный сотрудник

**Filippova Larisa Vyacheslavovna** – Candidate of Medical Sciences (PhD), Senior  
Researcher

**Аак Олег Владимирович** – кандидат химических наук, ведущий научный  
сотрудник

**Aak Oleg Vladimirovich** – Candidate of Chemical Sciences (PhD), Leading  
Researcher

**Тараскина Анастасия Евгеньевна** – кандидат биологических наук,  
заведующая НИЛ

**Taraskina Anastasiya Evgenievna** – Candidate of Biological Sciences (PhD),  
Head of the Laboratory

**Соболев Алексей Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор  
кафедры

**Sobolev Alexey Vladimirovich** – Doctor of Medicine, professor of the department

**Васильева Наталья Всеволодовна** – доктор биологических наук, профессор,  
директор НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина

**Vasilyeva Natalia Vsevolodovna** – Doctor of Biological Sciences (DSc), professor,  
Director of Kashkin Research Institute of Medical Mycology

**Климко Николай Николаевич** – доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой

**Klimko Nikolai Nikolaevich** – Doctor of Medicine, professor, Head of the department

**Блок 3. Метаданные статьи**

**ВЛИЯНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ *ASPERGILLUS FUMIGATUS* НА РЕГУЛЯЦИЮ ИММУННОГО ОТВЕТА БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ**

**THE INFLUENCE OF *ASPERGILLUS FUMIGATUS* MICROMYCETES ON IMMUNE RESPONSE REGULATION IN PATIENTS WITH ASTHMA**

**Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:**

*A. FUMIGATUS* И ИММУННЫЙ ОТВЕТ

*A. FUMIGATUS* & IMMUNE RESPONSE

**Ключевые слова:** аллергический бронхолегочный аспергиллез, бронхиальная астма, Т-хелперы клетки памяти, хемокины, иммунный ответ, *A. fumigatus*.

**Keywords:** allergic bronchopulmonary aspergillosis, asthma, T-helper memory cells, chemokines, immune response, *A. fumigatus*.

Оригинальная статья.

Количество страниц текста – 7, количество таблиц – 3, количество рисунков – 1.

22.06.2022.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1.	Барковская М.Ш., Блинова Е.А., Гришина Л.В., Леонова М.И., Непомнящих В.М., Демина Д.В., Козлов В.А. Содержание CD4+и CD8+ эффекторных клеток памяти и пролиферативная активность Т-лимфоцитов при бронхиальной астме // Медицинская иммунология. 2019. Т.21, №3. С.503-516.	Barkovskaya M.S., Blinova E.A., Grishina L.V., Leonova M.I., Nepomniashchikch V.M., Demina D.V., Kozlov V.A. Contents of CD4+and CD8+effector memory cells and proliferative activity of T lymphocytes in bronchial asthma. <i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)</i> . 2019, vol. 21, no.3, pp.503-516. (In Russ.)	doi.org/10.15789/1563-0625-2019-3-503-516
2.	Бибкова А.А., Сысоев К.А., Семенов А.В., Любимова Н.С., Арсентьева Н.А., Трофимов В.И., Тотолян Арег А. Значимость определения некоторых хемокинов и их рецепторов у больных бронхиальной астмой // Медицинская	Bibkova A.A., Syssoev K.A., Semenov A.V., Lubimova N.S., Arsentieva N.A., Trofimov V.I., Totolian Areg A. Evaluation and clinical significance of chemokines and their specific receptors in patients with bronchial asthma.	<a href="https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17332380">https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17332380</a>

	иммунология. 2012. Т.14, № 1-2. С. 109-188.	<i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2012, vol.14, no.1-2, pp. 109-188. (In Russ.)</i>	
3.	Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Калинина Е.П., Лобанова Е.Г., Антонюк М.В. Иммунные механизмы формирования бронхиальной астмы контролируемого и частично контролируемого течения // Медицинская иммунология. 2019. Т. 21, №3. С. 495-502.	Vitkina T.I., Novgorodtseva T.P., Kalinina E.P., Lobanova E.G., Antonyuk M.V. Immune mechanisms for development of controlled and partially controlled asthma. <i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)</i> . 2019, vol.21, no.3, pp.495-502. (In Russ).	doi.org/10.15789/1563-0625-2019-3-495-502
4.	Козлова Я.И., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Аак О.В., Кузнецов В.Д., Фролова Е.В., Васильева Н.В., Клишко Н.Н. Сенситизация к <i>Aspergillus</i> spp. у больных бронхиальной астмой // Врач. 2021. Т.32, №5. С.50-55.	Kozlova Y., Uchevatkina A., Filippova L., Aak O., Kuznetsov V., Frolova E., Vasilyeva N., Klimko N. Sensitization to <i>Aspergillus</i> spp. in patients with asthma. <i>Vrach</i> , 2021, vol.32, no.5, pp.50-55.	doi: 10.29296/25877305-2021-05-09

5.	Козлова Я.И., Фролова Е.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Аак О.В., Соловьева Г.И., Клишко Н.Н. Диагностические маркеры аллергического бронхолегочного аспергиллеза у больных бронхиальной астмой // Медицинская иммунология. 2018. Т.20, № 4. С. 561-570.	Kozlova Y.I., Frolova E.V., Filippova L.V., Uchevatkina A.E., Aak O.V., Solovyeva G.I., Klimko N.N. Diagnostic markers of allergic bronchopulmonary aspergilles in patients with bronchial asthma. <i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)</i> , 2018, vol. 20, no.4 , pp.561-570.	doi: 10.15789/1563-0625-561-570. 2018-4-561-570
6.	Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Кробинец И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К., Тотолян Арег А. Хемокиновые рецепторы на Т-хелперах различного уровня дифференцировки: основные субпопуляции // Медицинская иммунология. 2016. Т.18, №3. С.239-250.	Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Krobinets I.I., Savchenko A.A., Serebriakova M.K., Totolian A.A. Chemokine receptors at distinct differentiation stages of T-helpers from peripheral blood. <i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)</i> . 2016, vol.18, no.3, pp.239-250. (In Russ.)	doi: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250
7.	Смольникова М.В., Смирнова С.В., Ильенкова Н.А., Коноплева О.С. Иммунологические маркеры неконтролируемого течения атопической	Smolnikova M.V., Smirnova S.V., Ilyenkova N.A., Konopleva O.S. Immunological markers of uncontrolled atopic bronchial	doi: 10.15789/1563-0625-2017-4-453-460

	бронхиальной астмы у детей // Медицинская иммунология. 2017. Т.19, № 4. С. 453-460.	asthma in children. <i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)</i> . 2017, vol.19, no.4, pp.453-460. (In Russ.)	
8.	Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» (проект) // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, №3. С.255-268.	Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology «Research of lymphocytes subpopulation composition in peripheral blood using flow cytometry analyzers» (Draft). <i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)</i> , 2012, vol.14, no.3, pp. 255-268. (In Russ.)	<a href="https://elibrary.ru/item.asp?id=17659006">https://elibrary.ru/item.asp?id=17659006</a>
9.	Agarwal R., Chakrabarti A., Shah A., Gupta D., Meis J.F., Guleria R., Moss R., Denning D.W. For the ABPA complicating asthma ISHAM working group 2013. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. <i>Clinical and Experimental Allergy</i> , 2013, vol. 43, no.8, pp. 850-873.	—	doi: 10.1111/cea.12141.

10.	Becker K.L., Gresnigt M.S., Smeekens S.P., Jacobs C.W., Magis-Escurra C., Jaeger M., Wang X., Lubbers R., Oosting M., Joosten L.A., Netea M G, Reijers M H, van de Veerdonk F.L. Pattern recognition pathways leading to a Th2 cytokine bias in ABPA patients. Clin Exp Allergy., 2015, vol.45, pp.423-437.	—	doi: 10.1111/cea.12354.
11.	Campbell J.J., Brightling C.E, Symon F.A., Qin S., Murphy K.E., Hodge M., Andrew D.P., Wu L., Butcher E.C., Wardlaw A.J. Expression of chemokine receptors by lung T cells from normal and asthmatic subjects. J Immunol., 2001, vol.166, no.4, pp.2842-2848.	—	doi: 10.4049/jimmunol.166.4.2842.
12.	Carsin A., Romain T., Ranque S., Reynaud-Gaubert M., Dubus J.-C., Mege J.-L., Vitte J. Aspergillus fumigatus in cystic fibrosis: An update on immune interactions and molecular diagnostics in allergic bronchopulmonary aspergillosis. Allergy, 2017, vol.11, pp.1632-1642.	—	doi: 10.1111/all.13204

13.	Crotty S. T Follicular Helper Cell Biology: A Decade of Discovery and Diseases. Immunity, 2019, vol.50, no.5, pp.1132-1148.	—	doi: 10.1016/j.immuni.2019.04.011.
14.	Denning D.W., Pashley C., Hartl D., Wardlaw A., Godet C., Del Giacco S., Delhaes L., Sergejeva S. Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. Clinical and Translational Allergy, 2014, vol.4, p.14.	—	doi: 10.1186/2045-7022-4-14
15.	Goh K., Yii A.C.A., Lapperre T., Chan A.K., Chew F.T., Chotirmall S.H., Koh M.S. Sensitization to Aspergillus species is associated with frequent exacerbations in severe asthma. J Asthma Allergy., 2017, vol.10, pp.131-140.	—	doi: 10.2147/JAA.S130459
16.	Hirata H., Yukawa T., Tanaka A., Miyao T., Fukuda T., Fukushima Y., Kurasawa K., Arima M. Th2 cell differentiation from naive CD4 <sup>+</sup> T cells is enhanced by autocrine CC chemokines in atopic diseases. Clinical	—	doi.org/10.1111/cea.13313.



	and Experimental Allergy, 2019, vol.49, no.4, pp.474-483.		
17.	Jo K.M., Lim H.K., Sull J.W., Choi E., Lee J.S., Cheong M.A., Hong M.H., Kim Y., Kim I.S. Thymus and activation-regulated chemokine (TARC)/CCL17 and IgE are associated with elderly asthmatics. Immun Ageing., 2018, vol.15, p.13.	—	doi: 10.1186/s12979-018-0118-7
18.	Jolink H., de Boer R., Willems L.N., van Dissel J.T., Falkenburg J.H., Heemskerk M.H. T helper 2 response in allergic bronchopulmonary aspergillosis is not driven by specific Aspergillus antigens. Allergy, 2015, vol.70, no.10, pp.1336-1339.	—	doi: 10.1111/all.12688.
19.	Kamekura R., Shigehara K., Miyajima S., Jitsukawa S., Kawata K., Yamashita K., Nagaya T., Kumagai A., Sato A., Matsumiya H., Ogasawara N., Seki N., Takano K., Kokai Y., Takahashi H., Himi T., Ichimiya S. Alteration of circulating type 2 follicular helper T cells and regulatory B cells underlies the comorbid association of	—	doi: 10.1016/j.clim.2015.02.016.

	allergic rhinitis with bronchial asthma. Clin Immunol., 2015, vol.158, no.2, pp. 204-211.		
20.	Kurashima K., Fujimura M., Myou S., Ishiura Y., Onai N., Matsushima K. Asthma severity is associated with an increase in both blood CXCR3+ and CCR4+ T cells. Respirology, 2006, vol.11, no.2, pp.152-157.	—	doi: 10.1111/j.1440-1843.2006.00822.x.
21.	Lloyd C.M., Hessel E.M. Functions of T cells in asthma: more than just T(H)2 cells. Nat Rev Immunol., 2010, vol.10, no.12, pp.838-848.	—	doi:10.1038/nri2870
22.	Moazz M., Youssry S., Baess A., Abed A., Moazz M. Immune signature of CCR7+ central memory T cells associates with disease severity and Immunoglobulin E in bronchial asthma. Eur Ann Allergy Clin Immunol., 2021, vol.53, no.3, pp.115-127.	—	doi: 10.23822/EurAnnACI.1764-1489.168.
23.	Pashley C.H., Wardlaw A.J. Allergic fungal airways disease (AFAD): an under-recognised asthma endotype.	—	doi: 10.1007/s11046-021-00562-0.

	Мycopathologia, 2021, vol.186, no.5, pp.609-622.		
24.	Pepper M., Jenkins M.K. Origins of CD4(+) effector and central memory T cells. Nat Immunol., 2011, vol.12, no.6, pp. 467-471.	—	doi: 10.1038/ni.2038.
25.	Ramirez-Ortiz Z.G., Means T.K. The role of dendritic cells in the innate recognition of pathogenic fungi ( <i>A. fumigatus</i> , <i>C. neoformans</i> and <i>C. albicans</i> ). Virulence, 2012, vol.3, pp. 635-646.	—	doi: 10.4161/viru.22295
26.	Sio Y.Y., Pang S.L., Say Y.H., Teh K.F., Wong Y.R., Shah S.M.R., Reginald K., Chew F.T. Sensitization to Airborne Fungal Allergens Associates with Asthma and Allergic Rhinitis Presentation and Severity in the Singaporean / Malaysian Population. Mycopathologia, 2021, vol.186, no.5, pp.583-588.	—	doi: 10.1007/s11046-021-00532-6
27.	Sjaastad L.E., Owen D.L., Tracy S.I., Farrar M.A. Phenotypic and Functional Diversity	—	doi: 10.3389/fcell.2021.715901.

	in Regulatory T Cells. Front Cell Dev Biol., 2021, vol.9, p.715901.		
28.	The Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2022.	—	<a href="http://www.ginasthma.org/">http://www.ginasthma.org/</a>
29.	Tiwary M., Samarasinghe A.E. Initiation and Pathogenesis of Severe Asthma with Fungal Sensitization. Cells, 2021, vol.10, no.4, p.913.	—	doi: 10.3390/cells10040913.
30.	Varricchi G., Harker J., Borriello F., Marone G., Durham S.R., Shamji M.H. T follicular helper (Tfh ) cells in normal immune responses and in allergic disorders. Allergy, 2016, vol.71, no.8, pp.1086-1094.	—	doi: 10.1111/all.12878.
31.	Wardlaw A.J., Rick E.M., Pur Ozyigit L., Scadding A., Gaillard E.A., Pashley C.H. New Perspectives in the Diagnosis and Management of Allergic Fungal Airway Disease. J Asthma Allergy., 2021, vol.14, pp.557-573.	—	doi: 10.2147/JAA.S251709.

32.	Wiest M., Upchurch K., Yin W., Ellis J., Xue Y., Lanier B., Millard M., Joo H., Oh S. Clinical implications of CD4+ T cell subsets in adult atopic asthma patients. <i>Allergy Asthma Clin Immunol.</i> , 2018, vol.14, p.7.	—	doi: 10.1186/s13223-018-0231-3.
33.	Woolnough K.F., Richardson M., Newby C., Craner M., Bourne M., Monteiro W., Siddiqui S., Bradding P., Pashley C.H., Wardlaw A.J. The relationship between biomarkers of fungal allergy and lung damage in asthma. <i>Clin Exp Allergy</i> , 2017, vol.47, no.1, pp.48-56.	—	doi: 10.1111/cea.12848.
34.	Yao Y., Chen C.L., Yu D., Liu Z. Roles of follicular helper and regulatory T cells in allergic diseases and allergen immunotherapy. <i>Allergy</i> , 2021, vol.76, no.2, pp.456-470.	—	doi: 10.1111/all.14639.
35.	Yormaz B., Menevse E., Cetin N., Esin Celik Z., Bakir H., Tulek B., Korez M.K., Suerdem M. Diagnostic value of thymus and activation-regulated chemokine and of	—	doi: 10.2500/aap.2021.42.200102.

	periostin in eosinophilic asthma: A prospective study. <i>Allergy Asthma Proc.</i> , 2021, vol.42, no.1, e30-e39.		
--	---	--	--