

УДК 575.174.015.3:577.354.3:616.248-052-055.5/7

Е.С. Куликов, Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин,
И.В. Салтыкова, И.А. Деев, П.А. Селиванова

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАТТЕРНЫ ТЯЖЕЛОЙ
ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ РЕЗИСТЕНТНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ
ПО ДАННЫМ ТРАНСКРИПТОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ:
АНАЛИЗ ГЕННЫХ ОНТОЛОГИЙ И KEGG-ПУТЕЙ

121

В настоящее время доминирующие механизмы формирования терапевтической резистентности при астме пока не определены. Целью нашего исследования была оценка профилей генной экспрессии при тяжелой терапевтически резистентной астме. Проведено проспективное интервенционное исследование в параллельных группах с продолжительностью лечебного периода 24 недели. Апостериорно в соответствии с критериями ATS группа пациентов с тяжелой астмой была разделена на терапевтически чувствительных и резистентных пациентов. Глобальный уровень экспрессии генов определен в лимфоцитах периферической крови с помощью микрочипа Affymetrix HuGene ST1.0.

The leading mechanisms and causes of severe therapy resistant asthma are poorly understood. The aim of this study was to define global patterns of gene expression in adults with severe therapy-resistant asthma. Performed 24-week prospective interventional study in parallel groups. Severe asthma patients was aposterior divided at therapy sensitive and resistant patients according to ATS criteria. Global transcriptome profile was characterized using the Affymetrix HuGene ST1.0 chip.

Ключевые слова: бронхиальная астма, терапия, тяжелая бронхиальная астма, терапевтическая резистентность, молекулярные механизмы.

Key words: bronchial asthma, therapy, severe bronchial asthma, therapy resistance, molecular mechanisms.

Введение

В последние десятилетия во всем мире отмечается тенденция к росту распространенности тяжелых форм бронхиальной астмы (БА) [1]. Тяжелая астма составляет 18 % в общей структуре заболевания [2]. При этом расходы на лечение данной формы болезни достигают порядка 80 % общей стоимости астмы, то есть 80 % всех ресурсов потребляет 18 % пациентов [3]. Наряду с высокими показателями потребления средств здравоохранения тяжелая БА ассоциирована с частыми жизнеугрожающими состояниями и высоким риском смерти, что позволяет отнести тяжелую БА к одной из наиболее актуальных проблем современной медицины.

Согласно современной концепции астмы тяжёлая форма болезни является гетерогенным заболеванием, в структуре которого выделяют



несколько клинических вариантов течения (фенотипов), существенно различающихся по характеристике [4; 5].

Однако, несмотря на существование достаточно четко сформулированных клинических критериев отдельных фенотипов, данные знания не позволяют с достаточной степенью ясности определить фенотип-специфичный подход к терапии болезни.

Прогресс в изучении молекулярных механизмов тяжелой БА очевиден. Так, в многочисленных доказательных исследованиях определены наиболее вероятные причинные факторы и молекулы, лежащие в основе формирования тяжелой БА и терапевтической резистентности, которые могли бы быть использованы как в диагностических целях, так и стать новыми таргетными мишенями терапии БА [6].

В то же время утверждать, что сегодня имеется полное понимание механизмов формирования тяжелой астмы и терапевтической резистентности не представляется возможным. Во-первых, большинство проведенных исследований достаточно разнородны по своим целям и задачам, выполнены на неоднородных выборках пациентов с точки зрения степени тяжести и/или уровне контроля болезни субъектов, что не позволяет объединить результаты этих исследований и сформировать полную теоретическую концепцию. Во-вторых, опубликовано ограниченное количество исследований, в которых в качестве субъектов выступали пациенты с тяжелой терапевтически резистентной БА или представители фенотипов тяжелой астмы.

В этой связи особенно актуальным представляется планирование и выполнение полногеномного исследования тяжелой астмы, которое позволит оценить профили экспрессии генов, что даст возможность определить механизмы формирования терапевтической резистентности, разработать единую концепцию и в конечном счете идентифицировать таргетные мишени фенотип-специфичной (персонифицированной) терапии.

Материалы и методы

Для решения задач было спланировано и проведено по единому протоколу проспективное интервенционное исследование в параллельных группах с продолжительностью лечебного периода шесть месяцев. Протокол исследования был разработан в соответствии со стандартом ICH GCP и прошел этическую экспертизу.

Диагноз БА был установлен в соответствии с критериями GINA [7]. Было сформировано две группы пациентов — легкая персистирующая и тяжелая БА. Клиническое течение заболевания на момент включения в исследование в соответствии с критериями контроля должно было быть расценено как неконтролируемое. В рамках исследования в соответствии с протоколом пациенту назначались следующие фармакотерапевтические режимы: легкая персистирующая БА — флутиказона пропионат (ФП) 250 мкг/сут, тяжелая астма — сальметерол/ФП — 1000 мкг/сут по ФП.

По окончании лечебного периода по оценке эффективности терапии и критериями ATS (2000) группа пациентов с тяжелой БА апостериорно разделена на терапевтически чувствительных (ТЧБА) и рези-



стентных пациентов (ТРБА) [8]. Клиническая характеристика представлена в таблице 1.

Глобальный уровень экспрессии генов определен в лимфоцитах периферической крови у исследованных больных с помощью микрочипа Affymetrix HuGene ST1.0 (Affymetrix, Santa Clara, CA), содержащего пробы для 28875 генов. Выделение РНК, пробоподготовку, гибридизацию и сканирование микрочипов проводили в соответствии с протоколами Affymetrix. Гибридизация, окрашивание, промывка и сканирование микрочипов выполнена с помощью устройства GeneTitan. Полученные после сканирования изображения микрочипов конвертировали в экспрессионные сигналы с помощью программного обеспечения компании Affymetrix. Эти файлы затем использовали для оценки качества мечения и гибридизации микрочипов, а также препроцессинга, включающего коррекцию на фон, квантильную нормализацию и суммирование экспрессионных сигналов с помощью программы Affymetrix Power Tools 1.12.0. Последующий анализ проводили в программной среде R. Уровень экспрессии генов в различных группах сравнивали путем построения линейных моделей с помощью пакета limma [9], включая анализ линейных контрастов между сравниваемыми группами (легкая БА, ТЧБА, ТРБА). Поправку на множественные сравнения проводили с помощью подхода False Discovery Rate (FDR) [10].

Для построения перечня генов с дифференциальной экспрессией значение $p < 0,05$ после поправки на множественные сравнения расценивали как статистически значимое в любом из трех сравниваемых контрастов.

Генные онтологии и KEGG-пути были проанализированы с точки зрения направления изменения экспрессии — повышение или снижение. В анализ включались онтологии и пути со статистической значимостью $p < 0,05$.

Таблица 1

Клиническая характеристика групп сравнения

Показатель	Легкая БА (n = 5)	ТЧБА (n = 20)	ТРБА (n = 20)
Возраст, лет	53,80 ± 0,97	47,15 ± 3,20	51,40 ± 2,52
Количество дневных симптомов за последние семь дней	6,00 ± 1,97	12,45 ± 1,51	21,35 ± 2,13*
Количество ночных симптомов за последние семь дней	0,80 ± 0,20	2,55 ± 0,47	5,05 ± 1,15
Стаж заболевания, лет	9,00 ± 2,24	9,75 ± 1,94	16,65 ± 1,88*
Частота вызовов скорой помощи за последние двенадцать месяцев	—	0,15 ± 0,15	2,60 ± 1,23*
ОФВ1, %	99,36 ± 5,57	68,10 ± 1,89	61,97 ± 1,97*
РС20, мг/мл	4,01 ± 3,01	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,00
АСТ-тест, балл	20,40 ± 0,98	15,30 ± 0,58	12,40 ± 0,89*

Примечания:

* $p < 0,05$ — в сравнении с ТЧБА.

Результаты

Анализ транскриптома образцов идентифицировал 1388 генов, экспрессия которых статистически значимо отличалась между сравниваемыми группами.

Согласно полученным данным, наибольшее число генов со специфичной дифференциальной экспрессией зарегистрировано между ТРБА и легкой персистирующей БА ($n = 1201$). Значительно меньшее количество генов со специфичной экспрессией зарегистрировано при сравнении ТЧБА и ТРБА ($n = 18$), а также ТЧБА и легкой БА ($n = 49$).

Для 43 генов установлены различия в уровне экспрессии одновременно при сравнении ТЧБА и ТРБА, а также резистентной формой и легкой БА. Таким образом, ТРБА специфическим образом характеризуется отличием в уровне экспрессии 43 генов от других исследованных групп. Также по результатам проведенного анализа установлено, что ТЧБА и легкая персистирующая астма характеризуются отличием в уровне экспрессии 22 и 55 генов соответственно (рис.).

124

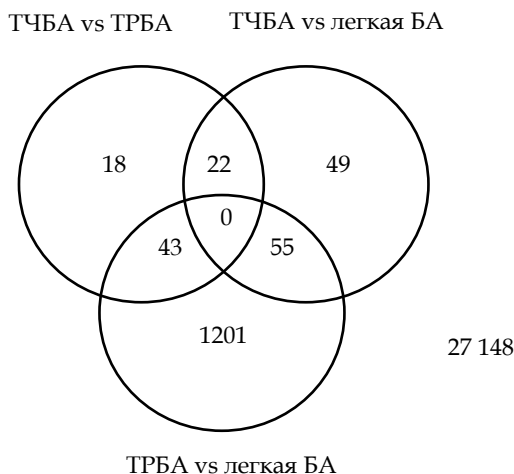


Рис. Количество генов с отличающейся экспрессией ($p < 0,05$)

Таким образом, в рамках оценки дифференциальной экспрессии генов было показано, что сравниваемые группы характеризуются различными профилями экспрессии, однако данный анализ дает лишь количественное представление о различиях между контрастами. Для характеристики молекулярных и биологических паттернов различий был проведен анализ генных онтологий (биологические процессы и молекулярные функции) и KEGG-путей.

При сравнении групп ТЧБА и ТРБА определены 11 биологических процессов и 9 молекулярных функций, ассоциированных с генами, уровень экспрессии которых был повышен в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА (табл. 2), а также 20 биологических процессов и 5 молекулярных функций, связанных с генами, уровень экспрессии которых был снижен в данных анализируемых контрастах (табл. 3).

**Генные онтологии, ассоциированные с генами,
экспрессия которых была повышена в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА**

GO. ID	Название процесса	P
<i>Биологические процессы</i>		
GO:0046854	phosphatidylinositol phosphorylation	0,0018
GO:0048015	phosphatidylinositol-mediated signaling	0,0053
GO:0019370	leukotriene biosynthetic process	0,0273
GO:0030149	sphingolipid catabolic process	0,0273
GO:0046949	fatty-acyl-CoA biosynthetic process	0,0273
GO:0045776	negative regulation of blood pressure	0,0273
GO:0009395	phospholipid catabolic process	0,0327
GO:0034080	CENP-A containing nucleosome assembly at centromere	0,0354
GO:0010811	positive regulation of cell-substrate adhesion	0,0381
GO:0060041	retina development in camera-type eye	0,0487
GO:0030101	natural killer cell activation	0,0487
<i>Молекулярные функции</i>		
GO:0045028	G-protein coupled purinergic nucleotide receptor activity	0,0010
GO:0004428	inositol or phosphatidylinositol kinase activity	0,0023
GO:0016702	oxidoreductase activity, acting on single donors with incorporation of molecular oxygen, incorporation of two atoms of oxygen	0,0073
GO:0016773	phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor	0,0191
GO:0042169	SH2 domain binding	0,0326
GO:0042809	vitamin D receptor binding	0,0384
GO:0005518	collagen binding	0,0442
GO:0033764	steroid dehydrogenase activity, acting on the CH-OH group of donors, NAD or NADP as acceptor	0,0442
GO:0008235	metalloexopeptidase activity	0,0470

125

Таблица 3

**Генные онтологии, ассоциированные с генами,
экспрессия которых была снижена в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА**

GO. ID	Название процесса	P
<i>Биологические процессы</i>		
GO:0007043	cell-cell junction assembly	0,0051
GO:0006790	sulfur compound metabolic process	0,0054
GO:0007399	nervous system development	0,0170
GO:0051707	response to other organism	0,0203
GO:0050982	detection of mechanical stimulus	0,0366
GO:0045909	positive regulation of vasodilation	0,0366
GO:0046128	purine ribonucleoside metabolic process	0,0366
GO:0010454	negative regulation of cell fate commitment	0,0366
GO:0009225	nucleotide-sugar metabolic process	0,0366
GO:0010002	cardioblast differentiation	0,0366



GO. ID	Название процесса	P
GO:0030204	chondroitin sulfate metabolic process	0,0366
GO:0002026	regulation of the force of heart contraction	0,0366
GO:0010165	response to X-ray	0,0402
GO:0014003	oligodendrocyte development	0,0402
GO:0042659	regulation of cell fate specification	0,0402
GO:0006040	amino sugar metabolic process	0,0402
GO:0006700	C21-steroid hormone biosynthetic process	0,0438
GO:0046326	positive regulation of glucose import	0,0438
GO:0008209	androgen metabolic process	0,0438
GO:0007398	ectoderm development	0,0474
<i>Молекулярные функции</i>		
GO:0016798	hydrolase activity, acting on glycosyl bonds	0,026
GO:0015020	glucuronosyltransferase activity	0,037
GO:0004872	receptor activity	0,038
GO:0045296	cadherin binding	0,040
GO:0048306	calcium-dependent protein binding	0,047

Среди генных онтологий были зарегистрированы биологические процессы и молекулярные функции, которые могут лежать в основе формирования тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию. К одному из таких биологических процессов можно отнести процесс биосинтеза лейкотриенов (GO:0019370 — leukotriene biosynthetic process, $p = 0,0273$), связанный с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА.

С учетом доказанной роли лейкотриенов в патогенезе астмы вероятное изменение активности данного биологического процесса теоретически может вносить вклад в формирование тяжести болезни. Необходимо отметить, что данная генная онтология также ассоциирована с генами, экспрессия которых повышена в группе ТЧБА в сравнении с легкой астмой.

По результатам нашего исследования, данная генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии гена *RNPEP*, кодирующего экзопептидазу, которая гидролизует лейкотриен А4 (LTA-4) в лейкотриен В4 (LTB-4), который и опосредует хемотаксис, экссудацию плазмы, бронхоспазм [11].

К ассоциированным с патогенезом биологическим процессам можно отнести и активацию натуральных киллеров (GO:0030101- natural killer cell activation, $p = 0,0487$). По данным нашего исследования эта генная онтология ассоциирована с генами, уровень экспрессии которых повышен в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА.

Натуральные киллеры (НК) являются компонентом врожденного иммунитета и играют роль эффекторов цитотоксичности в отношении опухолевых клеток, бактерий, вирусов и паразитов. Для реализации своих функций они не требуют предварительной сенситизации [12]. В интактных тканях НК находятся в неактивном состоянии, после активации НК способны синтезировать и высвобождать широкий спектр преимущественно провоспалительных цитокинов IFN- γ , IL-5, IL-8, IL-10, IL-22, IFN- γ , TNF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 α и RANTES.



Данная генная онтология ассоциирована с увеличением экспрессии гена *KIR3DS1*, кодирующего иммуноглобулин-подобный рецептор натуральных киллеров (killer cell immunoglobulin-like receptors) для HLA-C аллелей.

Среди генных онтологий были зарегистрированы биологические процессы, ассоциированные с генами, экспрессия которых была понижена в группе ТЧБА в сравнении с ТРБА. Для данного контраста такой онтологией вероятно можно считать процесс биосинтеза С21-стероидных гормонов (GO:0006700 – C21-steroid hormone biosynthetic process, $p = 0,0438$), который ассоциирован с генами, экспрессия которых снижена при ТЧБА в сравнении с ТРБА. К С21 стероидам принадлежат гестагенные гормоны (прогестерон) и кортикостероиды (кортикостерон, кортизол, альдостерон).

Вероятное снижение данного биологического процесса в группе ТЧБА может быть следствием угнетения эндогенной секреции кортикостероидов на фоне получения высоких доз ИКС и сохраненной чувствительности кортикостероидного рецептора [13]. Напротив, на фоне вероятного снижения при терапевтически чувствительной форме болезни в группе резистентных пациентов вероятно можно предположить увеличение активности данной онтологии. В данном случае этот феномен может быть обусловлен наличием одного или нескольких молекулярных механизмов формирования резистентности к глюкокортикоидам (дефект связывания с лигандом, нарушение ядерной транслокации, альтернативный сплайсинг рецепторов) [14; 15].

В нашем исследовании данная генная онтология ассоциирована только со снижением экспрессии гена *ADM*, кодирующего гипотензивный и вазодилатирующий пептид – адреномедуллин.

Среди KEGG-путей был зарегистрирован один путь, который может быть теоретически ассоциирован с формированием тяжести болезни и определять ответ на фармакотерапию – инфекция *Staphylococcus aureus* (hsa05150 – *Staphylococcus aureus* infection, $p = 0,01982$) (табл. 4). Данный путь ассоциирован с генами, экспрессия которых снижена при ТЧБА в сравнении с ТРБА.

Таблица 4

**KEGG-пути, ассоциированные с генами,
экспрессия которых изменена при сравнении больных с ТЧБА и ТРБА**

KEGG ID	Название пути	P
<i>Повышение экспрессии</i>		
hsa00790	Folate biosynthesis	0,02376
<i>Снижение экспрессии</i>		
hsa00532	Glycosaminoglycan biosynthesis – chondroitin sulfate	0,01139
hsa00030	Pentose phosphate pathway	0,01690
hsa00760	Nicotinate and nicotinamide metabolism	0,01690
hsa04744	Phototransduction	0,01937
hsa05150	<i>Staphylococcus aureus</i> infection	0,01982



Обсуждение результатов

Таким образом, при сравнении больных с тяжелой терапевтически чувствительной и резистентной формой болезни выявлены только несколько значимых генных онтологий изменения функции и активности, которые способны вносить вклад в формирование тяжести болезни и ответа на фармакотерапию астмы.

Одной из наиболее значимых онтологий в данном аспекте является «активация натуральных киллеров». Возможная роль этих клеток в патогенезе астмы у человека подтверждается регистрацией данных клеток в легких у пациентов с плохо контролируемым течением болезни [12]. Так, в БАЛ пациентов с тяжелой астмой было зарегистрировано достоверное повышение количества НК [16]. Максимальную цитотоксическую активность НК проявляют в присутствии нейтрофилов, которые служат основной эффекторной клеткой при тяжелой форме болезни согласно многочисленным исследованиям [17–19]. Необходимо отметить, что для реализации своих функций они не требуют предварительной сенситизации [12]. Таким образом, у данных пациентов основной причиной неконтролируемого течения болезни могут быть Th-2 независимые факторы, такие как вирусные инфекции, загрязнение воздуха и физическая нагрузка. Более того, на моделях астмы у животных было показано, что присутствие НК необходимо не только для развития гиперреактивности бронхов, но и для разрешения воспалительного процесса в бронхах [20; 21].

Данная биологическая функция с учетом изменения экспрессии, ассоциированного с ней гена, оказалась повышенной в группе ТЧБА, что может свидетельствовать о ее снижении в группе ТРБА.

Таким образом, одним из компонентов формирования терапевтической резистентности при БА может являться недостаточная активность НК вследствие снижения экспрессии иммуноглобулин-подобного рецептора НК на фоне повышения их общего количества.

Другим важным с точки зрения механизмов астмы KEGG-путем, зарегистрированным в данной группе пациентов, является «инфекция *Staphylococcus aureus*» (hsa05150 – *Staphylococcus aureus* infection, $p = 0,01982$). Данный путь с учетом изменения экспрессии, ассоциированного с ним гена, оказался сниженным в группе ТЧБА, что может свидетельствовать о его повышении при ТРБА.

В последнее время роль бактериальной инфекции как потенциально фактора риска формирования тяжелой бронхиальной астмы и триггера обострения у детей и взрослых широко обсуждается в литературе [22].

Так, например, установлено, что дефицит экспрессии T-bet способствует колонизации дыхательных путей инфекционными агентами (*Mycoplasma pulmonis*), что может являться предиктором неконтролируемого течения заболевания и формирования терапевтической резистентности [23]. Также дефицит T-bet у мышей лишенных гена данного фактора приводит к большей подверженности инфицированию *Mycobacterium tuberculosis* [24].



Целенаправленный анализ литературы позволил установить для золотистого стафилококка специфичные механизмы, которые способны оказывать влияния непосредственно на иммунное звено воспаления. Так, при инфекционных заболеваниях верхних дыхательных путей было показано, что энтеротоксин золотистого стафилококка индуцирует продукцию IgE, что посредством активации тучных клеток приводит к повышению активности воспаления [25].

В более поздних исследованиях было продемонстрировано, что данная модель персистенции воспаления применима и к астме. В 2008 г. было проведено исследование ассоциации уровня энтеротоксин-специфического IgE *S. aureus* с ТРБА и параметрами ее течения [26]. Так, в группе пациентов с терапевтической резистентностью уровень энтеротоксин-специфического IgE был в три раза выше в сравнении с терапевтически чувствительными пациентами. Более того, данный параметр был достоверно ассоциирован с более низкими показателями функции внешнего дыхания и более высокими показателями обратимости бронхиальной обструкции. Практически аналогичные результаты были воспроизведены в исследовании, проведенном в 2012 г. [27].

Таким образом, регистрация в сыворотке крови энтеротоксин-специфического IgE может свидетельствовать о вовлечении в патогенез тяжелой астмы суперантигена стафилококка.

Заключение

В рамках оценки дифференциальной экспрессии генов было показано, что сравниваемые группы характеризуются различными профилями экспрессии. Для характеристики молекулярных и биологических паттернов различий был проведен анализ генных онтологий (биологические процессы и молекулярные функции) и KEGG-путей.

По результатам проведенного анализа, одним из компонентов формирования терапевтической резистентности при БА может являться недостаточная активность НК вследствие снижения экспрессии иммуноглобулин-подобного рецептора НК на фоне повышения их общего количества, а также о вовлечении в патогенез тяжелой астмы суперантигена и/или энтеротоксина золотистого стафилококка.

Список литературы

1. *Global Burden of Asthma Report*. URL: <http://www.ginasthma.org/reports-global-burden-of-asthma.html> (дата обращения: 06.11.2013).
2. *Bergquist P., Crompton G.K.* Clinical management of asthma in 1999: the Asthma Insights and Reality in Europe (AIRE) study // *Eur Respir J*. 2001. № 18(1). P. 248.
3. *Чучалин А.Г., Пыжева Е.С., Колганова Н.А.* Социально-экономическая значимость заболеваемости бронхиальной астмой и ее стоимостное определение // *Экономика здравоохранения*. 1997. №4–5. С. 29–37.
4. *Chung K.F., Godard P., Adelroth E.* Difficult/therapy-resistant asthma // *Eur. Respir. J*. 1999. № 13. P. 1198–1208.



5. Федосеев Г.Б., Трофимов В.И., Петрова М.А. Многоликая бронхиальная астма, диагностика, лечение и профилактика. М., 2011.

6. Voelkel N., Spiegel S. Why is effective treatment of asthma so difficult? An integrated systems biology hypothesis of asthma // *Immunol Cell Biol.* 2009. № 87 (8). P. 601 – 605.

7. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы / под ред. А. С. Белевского. М., 2012.

8. *Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma: current understanding, recommendations, and unanswered questions* // American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000. № 162(6). P. 2341 – 2351.

9. Smyth, G. K. Limma: linear models for microarray data // *Bioinformatics and Computational Biology Solutions using R and Bioconductor.* N.Y., 2005. P. 397 – 420.

10. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // *J. R. Stat Soc B.* 1995. № 57. P 289 – 300.

11. Jakschik B.A., Kuo C.G. Characterization of leukotriene A4 and B4 biosynthesis // *Prostaglandins.* 1983. № 25(6). P. 767 – 82.

12. Karimi K., Forsythe P. Natural killer cells in asthma // *Front Immunol.* 2013. № 4(159).

13. Bakkeheim E., Mowinckel P., Carlsen K.H. et al. Reduced basal salivary cortisol in children with asthma and allergic rhinitis // *Acta Paediatr.* 2010. № 99(11). P. 1705 – 1711.

14. Leung D.Y., de Castro M., Szeffler S.J. Mechanisms of glucocorticoid-resistant asthma // *Ann N Y Acad Sci.* 1998. № 840. P. 735 – 746.

15. Bonnans C., Chanez P., Meziane H. Glucocorticoid receptor-binding characteristics in severe asthma // *Eur Respir J.* 2003. № 21. P. 985 – 988.

16. Hamzaoui A., Cheik Rouhou S., Graïri H. et al. NKT cells in the induced sputum of severe asthmatics // *Mediators Inflamm.* 2006. № 2. P. 712 – 714.

17. Nakagome K., Matsushita S., Nagata M. Neutrophilic inflammation in severe asthma // *Int Arch Allergy Immunol.* 2012. № 158. P. 96 – 102.

18. Grigoraş A., Grigoraş C.C., Mihaescus T. Neutrophilic inflammation-indicative of asthma severity // *Pneumologia.* 2010. № 59(1). P. 13 – 18.

19. Selivanova P.A., Kulikov E.S., Kozina O.V. et al. Morphological and molecular characteristics of «difficult» asthma // *J Asthma.* 2010. № 47(3). P. 269 – 275.

20. Akbari O., Faul J.L., Hoyte E.G. CD4+ invariant T-cell-receptor+ natural killer T cells in bronchial asthma // *N Engl J. Med.* 2006. № 354(11). P. 1117 – 1129.

21. Haworth O., Cernadas M., Levy B.D. NK cells are effectors for resolvin E1 in the timely resolution of allergic airway inflammation // *J Immunol.* 2011. № 186(11). P. 6129 – 6135.

22. Wood P.R., Hill V.L., Burks M.L. Mycoplasma pneumoniae in children with acute and refractory asthma // *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013. № 110(5). P. 328 – 334.

23. Bakshi C.S., Malik M., Carrico P.M. T-bet Deficiency Facilitates Airway Colonization by Mycoplasma pulmonis in a Murine Model of Asthma // *The Journal of Immunology.* 2006. № 177. P. 1786 – 1795.

24. Sullivan B.M., Jobe O., Lazarevic V. Increased susceptibility of mice lacking T-bet to infection with Mycobacterium tuberculosis correlates with increased IL-10 and decreased IFN-gamma production // *The Journal of Immunology.* 2005. № 175. P. 4593 – 4602.

25. Van Zele T., Gevaert P. Role of Staphylococcus aureus in upper respiratory infections // *Verh K Acad Geneesk Belg.* 2008. № 70(5 – 6). P. 369 – 378.



26. Kowalski M.L., Cieślak M., Pérez-Novo C.A. et al. Clinical and immunological determinants of severe/refractory asthma (SRA): association with Staphylococcal superantigen-specific IgE antibodies // *Allergy*. 2011. № 66(1). P. 32–38.

27. Bachert C., van Steen K., Zhang N. et al. Specific IgE against Staphylococcus aureus enterotoxins: an independent risk factor for asthma // *J Allergy Clin Immunol*. 2012. № 130(2). P. 376–381.

Об авторах

Евгений Сергеевич Куликов — канд. мед. наук, асист., Сибирский государственный медицинский университет, Томск.

E-mail: evgeny.s.kulikov@gmail.com

Людмила Михайловна Огородова — д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН, Сибирский государственный медицинский университет, Томск.

E-mail: lm-ogorodova@mail.ru

Максим Борисович Фрейдin — канд. биол. наук, ст. науч. сотр., Научно-исследовательский институт медицинской генетики СО РАМН, Томск.

E-mail: mfreidin@medgenetics.ru

Ирина Владимировна Салтыкова — канд. мед. наук, Сибирский государственный медицинский университет, Томск.

E-mail: evgeny.s.kulikov@gmail.com

Иван Анатольевич Деев — д-р мед. наук, проф., Сибирский государственный медицинский университет, Томск.

E-mail: ivandeyev@yandex.ru

Полина Александровна Селиванова — канд. мед. наук, Сибирский государственный медицинский университет, Томск.

E-mail: p.selivanova@mail.ru

About the authors

Dr Yevgeny Kulikov, Lecturer, Siberian State Medical University, Tomsk.

E-mail: evgeny.s.kulikov@gmail.com

Prof. Lyudmila Ogorodova, Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, Siberian State Medical University, Tomsk.

E-mail: lm-ogorodova@mail.ru

Dr Maxim Feydin, Senior Research Fellow, Research Institute for Medical Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk.

E-mail: mfreidin@medgenetics.ru

Dr Irina Saltykova, Siberian State Medical University, Tomsk.

E-mail: evgeny.s.kulikov@gmail.com

Prof. Ivan Deyev, Siberian State Medical University, Tomsk.

E-mail: ivandeyev@yandex.ru

Dr Polina Selivanova, Siberian State Medical University, Tomsk.

E-mail: p.selivanova@mail.ru