

УДК 616.248-001.19-06:616.233-002-02
DOI 10.20538/1682-0363-2017-2-159-169

Для цитирования: Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Бородин Е.А., Ушакова Е.В., Макарова Г.А., Перельман Ю.М. Особенности бронхиального воспаления у больных астмой с гиперреактивностью дыхательных путей на холодной и осмотические триггеры. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (2): 159–169

Особенности бронхиального воспаления у больных астмой с гиперреактивностью дыхательных путей на холодной и осмотические триггеры

Пирогов А.Б.¹, Приходько А.Г.¹, Зиновьев С.В.², Бородин Е.А.²,
Ушакова Е.В.¹, Макарова Г.А.¹, Перельман Ю.М.¹

¹ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

² Амурская государственная медицинская академия
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

РЕЗЮМЕ

Введение. Поиск молекулярно-клеточных механизмов ответа дыхательных путей больных бронхиальной астмой (БА) на холодovou и осмотические стимулы обусловлен распространенностью чрезмерной реакции бронхов на сочетанное воздействие неблагоприятных факторов внешней среды.

Цель исследования. Изучение особенностей структурно-функциональной организации гранулоцитарного сегмента воспаления бронхов во взаимосвязи с цитокиновым профилем, пероксидазной активностью крови, системным уровнем перекисного окисления липидов (ПОЛ) у больных БА с холодной и осмоиндуцированной гиперреактивностью дыхательных путей.

Материал и методы. У 43 больных персистирующей БА, легкого частично контролируемого и неконтролируемого течения с холодной и осмотической гиперреактивностью дыхательных путей (1-я группа) оценивали симптомы астмы, вентиляционную функцию легких; определяли уровень IL-5, IL-12 в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ); выявляли общее содержание миелопероксидазы (МПО) в индуцированной мокроте (ИМ); подсчитывали количество нейтрофилов и эозинофилов в мазках ИМ, на основании цитологического и цитохимического анализа препаратов рассчитывали коэффициенты активности МПО в гранулярных лейкоцитах, степени деструкции клеток и интенсивности цитолиза. В сыворотке крови исследовали содержание гидроперекисей липидов (ГПЛ), МПО. Группу сравнения (2-я группа) составили больные БА с отрицательной реакцией бронхов на холодovou и осмотические стимулы (11 человек).

Результаты. В 1-й группе в сравнении со 2-й наблюдались повышение нейтрофильного пула ИМ ((35,4 ± 3,5)% и (17,2 ± 2,0)%; $p = 0,014$); высокая интенсивность цитолиза гранулоцитов (0,38 ± 0,02 и 0,26 ± 0,02; $p = 0,013$), повышенный уровень IL-12 ((2,94 ± 0,09) пг/мл и (2,53 ± 0,13) пг/мл; $p = 0,024$), IL-5 ((3,64 ± 0,37) пг/мл и (2,15 ± 0,14) пг/мл, $p = 0,0001$). Интенсивность цитолиза нейтрофилов тесно коррелировала с уровнем IL-12 ($r = 0,46$; $p = 0,026$); отмечалось двукратное увеличение концентрации МПО в ИМ ((199,7 ± 49,0) пикселей и (81,4 ± 26,2) пикселей, $p = 0,039$). Содержание ГПЛ в сыворотке крови было тесно связано с уровнем МПО в ИМ ($r = 0,48$; $p = 0,039$) и IL-5 в КВВ ($r = 0,71$; $p = 0,031$).

Заключение. Повышение количества и ферментативной активности нейтрофилов бронхиального инфильтрата является характерной особенностью структурной организации воспаления и определяет

✉ Перельман Юлий Михайлович, e-mail: jperelman@mail.ru.

оксидативный статус бронхов, пероксидазную активность крови, системную окислительную деградацию липидов у больных БА с холодовой и осмотической гиперреактивностью дыхательных путей. Активация гранулоцитарного сегмента бронхиального воспаления влияет на развитие и поддержание неспецифической гиперреактивности дыхательных путей за счет эскалации оксидативного стресса и персистенции воспаления.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гиперреактивность дыхательных путей, нейтрофильные и эозинофильные лейкоциты, воспаление, цитокины, миелопероксидаза, перекисное окисление липидов.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время наблюдается высокая распространенность чрезмерной реакции дыхательных путей на экзогенные триггеры, связанные с неблагоприятными климатическими условиями, интенсивную физическую нагрузку [1–3]. Присущее Тихоокеанскому региону сочетание избыточной влажности и низких температур атмосферного воздуха индуцирует развитие гиперреактивности дыхательных путей, усиливает и поддерживает бронхиальное воспаление, что влечет за собой снижение контроля бронхиальной астмы (БА) [4] и диктует необходимость поиска молекулярно-клеточных механизмов формирования реакции на осмотический и холодовой стимулы.

Согласно концепции о роли оксидативного стресса в патогенезе БА, индуктором развития и поддержания бронхоспазма служит гиперпродукция активных форм кислорода (АФК), пероксинитрита, гипохлорита [5, 6], модифицирующих активность ядерного транскрипционного фактора NF- κ B с последующей стимуляцией экспрессии генов провоспалительных цитокинов [7], от активности которых зависит рост и дифференцировка ранних и поздних гранулоцитарных предшественников, формирование нейтрофильных колоний в культуре кроветворных клеток, мобилизация нейтрофилов из костного мозга с увеличением генерации циркулирующих нейтрофилов и миграции лейкоцитов в очаг воспаления [8]. Цитокины Th1-типа у больных БА стимулируют специализированную дифференцировку гранулоцитов в воспаление. Актуален поиск взаимосвязи между воспалительными эффектами лейкоцитов и цитокинами типов Th1 и Th2, эндогенно регулируемыми хемотаксис, апоптоз, пролиферацию гранулоцитов, праймирующими нейтрофилы с целью выработки АФК и свободных радикалов [9].

В азурофильных гранулах нейтрофилов синтезируется и депонируется миелопероксидаза (МПО), секретлируемая в межклеточное пространство при стимулированной медиаторами дегрануляции. МПО катализирует в присутствии H_2O_2

окисление галогенидов (Cl^- , Br^- , I^-) [10] с образованием высоко реакционноспособных гипогалогенидов – активных форм галогенов (АФГ) [11]. Производные гипогалогенидов – хлорноватистая, бромноватистая и иодноватистая кислоты ($HOCl$, $HOBr$ и HOI) и их ионизированные формы – гипохлорит, гипобромит и гипоиодит – модифицируют функциональные группы липидов, белков, углеводов и других жизненно важных молекул [12–14], галогенируют и бромнируют нуклеотиды ДНК, вызывая окислительные мутагенные эффекты в клетках [15]. Цитотоксическая и бактерицидная активность МПО, инициирующая воспаление [14–16], обеспечивает связь между оксидативным и галогенирующим стрессом [11, 17].

Если патогенез гиперреактивности бронхов при астме связан со стрессорным повреждением белков и гликопротеинов, инактивацией тканевых рецепторов, то развитию экссудации и дальнейшему прогрессированию воспаления способствует перекисное окисление липидов (ПОЛ) [5]. По современным данным, свободнорадикальное окисление липидов индуцируется не только АФК, но и АФГ, катализируемыми МПО [11, 15, 18]. Представляют интерес причастность МПО лейкоцитов больных БА с реакцией дыхательных путей на холодовой и осмотический стимулы к процессам ПОЛ, а также связь между воспалительным паттерном бронхов, ферментативной активностью гранулоцитов, свободнорадикальным окислением липидов и регуляторной системой цитокинов.

Цель настоящей работы – изучение особенностей структурно-функциональной организации гранулоцитарного сегмента воспаления бронхов во взаимосвязи с цитокиновым профилем, пероксидазной активностью крови, системным уровнем ПОЛ у больных БА с холодо- и осмоиндуцированной гиперреактивностью дыхательных путей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 54 больных в возрасте 22–55 лет обоого пола (27 женщин, 27 мужчин) с частично контролируемым и неконтролируемым течением БА [19]. Были сформированы

две группы: в первую включены 43 больных БА с верифицированной холодовой и осмотической гиперреактивностью дыхательных путей, во вторую – 11 человек с отсутствием реакции бронхов на данные стимулы.

Критерием включения в исследование служили: объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) более 75% должной величины, отсутствие острой респираторной инфекции в течение последних 4 нед, патологии других органов и систем, влияющей на результаты исследования. Пациенты принимали ингаляционные кортикостероиды в виде монотерапии либо в сочетании с длительно действующими β_2 -агонистами в суточной дозе ≤ 1000 мкг (в пересчете на бекламетазон) и короткодействующие β_2 -агонисты в режиме «по требованию» предшествующие 4 нед до забора биологического материала и проведения клинико-функционального тестирования.

Дизайн работы предполагал оценку симптомов БА, контроля над заболеванием по вопроснику Asthma Control Test (ACT) (Quality Metric Inc., 2002); определение вентиляционной функции легких, сбор конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ); индуцированной мокроты (ИМ), забор крови для биохимического исследования. Перед распределением больных в группы проводили стандартные бронхопровокационные пробы на выявление холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей [1, 4], проба считалась положительной при падении ОФВ₁ на 10% от базовой величины и более. Спирометрия выполнялась на аппарате Easy on-PC (nndMedizintechnik AG, Швейцария) с последующей проверкой параметров кривой «поток – объем» форсированного выдоха на обратимый компонент обструкции пути ингаляции 200 мкг сальбутамола.

Сбор КВВ выполнялся при помощи аппарата ECoScreen Turbo (VIASUS Healthcare GmbH, Германия) через одноразовый дыхательный контур, который позволял осуществлять вдох из окружающей атмосферы, а выдох – в устройство, конденсирующее пары выдыхаемого воздуха при температуре -20 °С. Температура и относительная влажность окружающего воздуха регистрировались ежедневно перед исследованием, колебания значений показателей находились в пределах $24-25$ °С и $55-65\%$ соответственно. После окончания установленного для сбора КВВ времени колба с биологическим материалом немедленно извлекалась из аппарата, закрывалась крышкой. Конденсат изымался при помощи стерильного шприца, немедленно помещался в морозильную камеру при температуре -70 °С, где

хранился до проведения биохимических исследований. В образцах КВВ исследовали содержание цитокинов (IL-5, IL-12) методом твердофазного иммуноферментного анализа на полуавтоматическом ИФ анализаторе Multiskan Fc (Termo Fisher Scientific, Финляндия) с использованием коммерческих наборов Bender Med Systems (Австрия).

Сбор ИМ начинался с исследования вентиляционной функции легких на спирометре, затем больному через дозированный аэрозольный ингалятор вводился сальбутамол в дозе 200 мкг. Индукция мокроты осуществлялась ингаляцией 3-, 4- и 5%-го раствора NaCl с применением ультразвукового небулайзера (OMRON NE-U-17, Япония) сеансами по 7 мин, по завершении каждого сеанса определяли ОФВ₁. При снижении ОФВ₁ более 10% от исходного значения и (или) получении удовлетворительного образца мокроты ингаляцию прекращали [20].

Цитологическое исследование ИМ проводили по общепринятой методике не позднее 2 ч после ее получения. Микропрепараты ИМ изучали при помощи светооптической иммерсионной микроскопии с подсчетом не менее 400 клеток в 100 полях зрения. Подсчитанное количество клеток выражали в процентах. Цитохимическое исследование активности МПО нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов в цитологических мазках ИМ проводили по методу Грэхема – Кнолля с докраской мазков после обработки бензидином и перекисью водорода водным раствором азура-2. Изображения микропрепаратов получали с помощью цифровой видеокамеры ДСМ 510 с системой захвата изображения. Для цифровой обработки изображений клеток использовали компьютерные программы Image Tool и Optika Vision Pro (Италия), Mac Biophotonics Image S (США). На основании полученных данных оптической плотности фермента в исследуемых клетках рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) МПО (в пикселях) [21, 22].

Степень и интенсивность процессов деструкции в нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитах определяли по методу Л.А. Матвеевой с выделением пяти классов деструкции клеток. Степень повреждения клеток вычисляли с помощью суммарного индекса деструкции клеток (ИДК). Индекс интенсивности цитолиза (ИЦ) рассчитывали как отношение количества наиболее разрушенных клеток к содержанию остальных поврежденных клеток.

$$\text{ИДК} = \frac{n_1 + n_2 + n_3 + n_4}{100}.$$

$$ИЦ = \frac{n_4}{n_0 + n_1 + n_2 + n_3 + n_4},$$

где 0, 1, 2, 3, 4 – номера классов деструкции; n – количество клеток соответствующего класса.

По отношению индекса деструкции клеток к индексу их цитолиза (ИДК/ИЦ) оценивалась интенсивность цитолиза клеток [13, 14]. Общую концентрацию МПО в ИМ (МПО_о, нг/мл) и уровень МПО в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на анализаторе Multiskan Fc (Termo Fisher Scientific, Финляндия) с использованием коммерческого набора Bender Med Systems для определения МПО (кат. № BMS2038).

Для определения в крови концентрации продуктов ПОЛ – гидроперекисей липидов (ГПЛ) – применяли метод, основанный на способности ГПЛ окислять ионы Fe²⁺ до Fe³⁺ с последующей реакцией на ионы железа (III), с использованием тиоцианата аммония. Величину гидроперекисей выражали в нмоль/мл сыворотки крови.

Статистический анализ выполнялся на основе стандартных методов вариационной статистики. Для определения уровня статистической значимости различий использовали непарный критерий Стьюдента (t), в случаях негауссовых распределений – непараметрический критерий Колмогорова – Смирнова. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами проводили корреляционный анализ, рассчитывали коэффициент корреляции (r). Для всех величин принимали во внимание уровень значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам клинико-функционального тестирования пациенты исследуемых групп были сопоставимы по антропометрическим данным, не имели существенных различий вентиляционной функции легких и контроля над заболеванием (табл. 1). В группе 1 наблюдался более высокий прирост ОФВ₁ после пробы с сальбутамолом.

Т а б л и ц а 1

Клиническая характеристика пациентов, $M \pm m, Mo$ [нижний; верхний квартили]			
Показатель	Группа 1 ($n = 43$)	Группа 2 ($n = 11$)	p
Возраст, лет	42,8 ± 1,5	40,1 ± 1,9	0,37
Длительность заболевания, лет	3,8 ± 1,0	4,5 ± 1,1	0,68
АСТ, баллы	17,9 ± 0,8	17,2 ± 1,5	0,68
ОФВ ₁ , % долж.	93,8 ± 2,4	95,2 ± 5,5	0,81
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %	71,3 ± 1,1	74,9 ± 2,5	0,17
ΔОФВ ₁ , %	9,0 [2,4; 17,5]	2,0 [-0,5; 4,4]	0,015

П р и м е ч а н и е. Здесь и далее: ΔОФВ₁, % – динамика ОФВ₁ после пробы с сальбутамолом.

При анализе цитогрaмм ИМ на фоне большого числа эозинофилов в обеих группах больных у пациентов с холод- и осмоиндуцированной гиперреактивностью дыхательных путей обнаружено значительное увеличение пула нейтрофилов (табл. 2). С приростом доли нейтрофилов у больных группы 1 ассоциировалось увеличение в тканях общего уровня МПО, протеинов и других воспалительных медиаторов, продуцируемых и резервируемых в гранулах клеток.

Т а б л и ц а 2

Клеточный состав индуцированной мокроты, %, $M \pm m$							
Показатель	Нейтрофилы	Эозинофилы	Макрофаги	Лимфоциты	Эпителий	СЦК МПО	МПО _о
Группа 1	35,3 ± 3,5	19,0 ± 2,5	40,1 ± 3,8	2,2 ± 0,3	1,1 ± 0,4	113,0 ± 7,7	199,7 ± 49,0
Группа 2	17,5 ± 2,0	17,8 ± 5,8	57,8 ± 5,8	4,8 ± 1,3	0,74 ± 0,3	103,6 ± 14,2	81,4 ± 26,2
p	0,014	0,84	0,034	0,006	0,65	0,58	0,039

Преимущественно некротический путь гибели эозинофилов, сопровождаемый выбросом из клеток воспалительных цитокинов и медиаторов, рост числа некротизированных полинуклеаров в мокроте сопряжены с активацией деструктивных и цитолитических процессов в гранулярных лейкоцитах. В табл. 3 представлены показатели деструкции и цитолиза нейтрофилов и эозинофилов, приводящие к экзоцитозу в экстрацеллюлярное пространство флогогенных агентов, в том числе лизосомальных ферментов (МПО), и прогрессированию воспаления.

Т а б л и ц а 3

Цитоморфологические показатели деструкции и интенсивности цитолиза эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитов индуцированной мокроты, $M \pm m$				
Показатель	Эозинофилы		Нейтрофилы	
	ИДК	ИЦ	ИДК	ИЦ
Группа 1 ($n = 43$)	0,44 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,45 ± 0,02	0,38 ± 0,02
Группа 2 ($n = 11$)	0,45 ± 0,03	0,27 ± 0,03	0,46 ± 0,03	0,26 ± 0,02
p	0,75	0,043	0,72	0,013

На фоне равнозначного ИДК эозинофилов и нейтрофилов в обеих группах обращает на себя внимание высокая интенсивность цитолиза у больных с гиперреактивностью дыхательных путей.

При исследовании КВВ у больных группы 1 по отношению к больным группы 2 обнаружено увеличение базовой концентрации IL-5 – ключевого цитокина Th2-профиля, ответственного за пролиферацию и созревание эозинофилов, а также преобладание уровня IL-12 (табл. 4), выступающего в роли синергиста IL-8, важного участника воспаления. В данном исследовании прослеживалась прямая корреляционная связь между интенсивностью цитолиза нейтрофилов в ИМ и базовой концентрацией IL-12 в КВВ ($r = 0,46$; $p = 0,026$) у больных с гиперреактивностью дыхательных путей.

Т а б л и ц а 4

Уровень цитокинов в конденсате выдыхаемого воздуха, пг/мл			
Показатель	Группа 1	Группа 2	p
IL-5, Мо [нижний; верхний квартили]	2,75 [2,12; 4,1]	2,13 [1,8; 2,49]	0,026
IL-12, М ± m	2,94 ± 0,09	2,53 ± 0,13	0,024

Авторами не найдено статистически значимых различий МПО в сыворотке крови вследствие его высокой внутригрупповой вариабельности (145 [60,2; 250,0] и 257,0 [132,0; 380,0] нг/мл соответственно, $p = 0,28$). В то же время наблюдалась тенденция к увеличению гидроперекисей липидов в группе больных с гиперреактивностью дыхательных путей по отношению к лицам, не имевшим реакции на триггеры ($9,8 \pm 0,4$) и ($8,4 \pm 1,1$) нмоль/мл соответственно; $p = 0,19$).

У больных группы 1 прослеживалась тесная связь между значением СЦК МПО гранулоцитов в ИМ и базовым уровнем ГПА в крови ($r = 0,48$; $p = 0,039$). МПО-зависимая генерация АФГ и продуктов ПОЛ у таких больных базируется на праймировании свободнорадикальных эффектов лейкоцитов цитокинами, о чем свидетельствует найденная корреляционная зависимость между концентрацией IL-5 в КВВ и уровнем ГПА в крови ($r = 0,71$; $p = 0,031$). Кроме того, у этих больных прослеживалась тесная связь между ИЦ нейтрофилов в ИМ и реакцией бронхов ($\Delta\text{ОФВ}_1$) в ответ на холодовую ($r = -0,40$; $p = 0,041$) и осмотическую провокацию ($r = -0,33$; $p = 0,044$). Базовый уровень СЦК МПО гранулоцитов тесно коррелировал с реактивностью дыхательных путей ($\Delta\text{ОФВ}_1$) ($r = -0,34$; $p = 0,037$), а содержание ГПА в сыворотке крови существенно влияло на

степень выраженности реакции мелких бронхов (МОС_{25-75}) ($r = -0,68$; $p = 0,032$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Среди физических факторов окружающей среды, выполняющих функцию экзогенного триггера бронхоконстрикции при неспецифической гиперреактивности дыхательных путей, наиболее распространенными являются холодовой и осмотический стимулы. Холодовая и осмотическая гиперреактивность могут интерферировать у одного и того же больного, но могут встречаться и изолированно. В основе неспецифической гиперреактивности лежат мутации генов рецепторов семейства TRP, осуществляющих трансдукцию осмолярных и термических стимулов в нервных, эпителиальных и других клетках дыхательных путей [23, 24]. Дальнейший сигналинг осуществляется при модулирующем участии продуктов оксидативного стресса, в генерации которого самое активное участие принимает пул бронхиальных нейтрофилов за счет повышенной активности миелопероксидазы. Полученные данные свидетельствуют, что нейтрофильное воспаление способствует проявлению неспецифической гиперреактивности дыхательных путей в ответ на осмолярный и холодовой стимулы.

Повышение уровня нейтрофилов в мокроте у больных группы 1 может служить одним из критериев неблагоприятного прогноза течения астмы. По утверждению А.Н. Маянского [5], возникающий в ответ на действие экзогенных и эндогенных триггеров респираторный взрыв и оксидантные реакции нейтрофилов зависят от стимула и могут подвергаться деактивации или праймированию, то есть негативному и позитивному кондиционированию. Праймирующими свойствами по отношению к нейтрофилам обладают липидные медиаторы, ростовые факторы, хемокины, цитокины. Клеточное воспаление у больных исследуемых групп регулируется взаимодействием цитокинов типов Th2 и Th1, при этом нейтрофилы праймируются Th1-цитокинами, к которым относится синтезируемый В-лимфоцитами, моноцитами и макрофагами IL-12 – главный фактор дифференцировки Th1 из Т-индукторов, активатор НК-клеток. Следует отметить влияние на количественную и функциональную характеристики нейтрофилов их способности к продукции «самостимулирующих» цитокинов, потенцирующих максимальное раскрытие эффекторных возможностей клеток [9].

Известно, что IL-12 выступает синергистом IL-8 – ведущего активатора образования АФК и

свободных радикалов – в экспрессии на эндотелии адгезионных молекул с целью привлечения и активации лейкоцитов [25], стимулирует фибробласты и лейомиоциты к выработке хемоаттрактантов, цитокинов и факторов роста [26], в результате чего воспаление усиливается и поддерживается [24], приобретая персистирующее течение. Преобладание уровня ИЛ-12 в КВВ пациентов группы 1 над его уровнем в группе 2 манифестирует активацию воспаления при осмотической гиперреактивности бронхов, связанную с праймированием нейтрофилов и развитием нейтрофилии воспалительного инфильтрата.

Кроме того, у больных группы 1 наблюдались более высокие значения в КВВ базовой концентрации ИЛ-5 – ключевого цитокина Th2-профиля, ответственного за пролиферацию и созревание эозинофилов. Активация ИЛ-5, секретируемого Т-лимфоцитами, тучными клетками и эозинофилами, и являющегося регулятором всех стадий дифференцировки пула эозинофилов и продукции интегринов (адгезионных молекул CD11b/CD18), ассоциируется с эозинофилией бронхиального воспаления при астме [4, 27–29]. ИЛ-5, как и ИЛ-13, рассматривается в качестве мощного внешнего регулятора апоптоза, элиминирующего клеточные эффекторы воспаления. У астматиков ИЛ-5-зависимое увеличение экспрессии генов *bcl-2* оказывает супрессивное влияние на апоптоз, пролонгируя повреждающую активность эозинофилов, увеличивая долю клеток, гибнущих путем некроза, и стимулируя воспаление [4].

Активные процессы деструкции и цитолиза лейкоцитов у больных группы 1, неотделимые от усиленной секреции гранул, содержащих МПО, протекают параллельно с интенсификацией внутриклеточного синтеза и депонирования фермента. Вероятно, концентрация МПО внутри и вне клеток зависит от утилизации фермента в тканевом пространстве в ходе образования галогенсодержащих реагентов, а также от уровня истощения и компенсаторного нарастания ферментативного запаса клеток – продукции МПО в лизосомах и накопления в цитоплазматических гранулах. Высокие значения МПО лейкоцитов, скорее всего, обусловлены происходящим одновременно с экзоцитозом усилением синтеза медиаторных гранул, проникновение которых во внешнюю среду при деструкции и лизисе клеток обеспечивает в прооксидантно-антиоксидантном статусе бронхов пациентов с гиперреактивностью стойкое доминирование окислительных процессов.

С накоплением МПО в лейкоцитарных гранулах, последующим высвобождением фермента за счет клеточной деструкции и цитолиза, МПО-опосредованным катализом продукции АФГ, ассоциирован и уровень ПОЛ. Традиционным индикатором ПОЛ в биологических системах принято считать ГПА. В сыворотке крови больных с гиперреактивностью дыхательных путей наблюдалась тенденция к увеличению исходного содержания ГПА по сравнению с лицами, не реагирующими на триггеры. Ранее обнаружен значимый прирост этого показателя в ответ на 3-минутную ингаляцию дистиллированной водой у лиц с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей [4]. Это свидетельствовало о сопряженности интенсификации ПОЛ крови с цитолизом гранулоцитов, высоким общим содержанием и максимальной внутриклеточной активностью МПО в бронхах.

Как известно, иницирующим звеном АФГ-индуцированного ПОЛ служит реакция НОС1 с гидропероксидной группой с образованием пероксильных радикалов, затем трансформирующихся в алкоксильные радикалы [11, 18]. Диеновые конъюгаты и гидропероксиды образуются благодаря свободнорадикальному механизму взаимодействия первичных АФГ с ненасыщенными связями ацильных цепей фосфолипидов [18]. МПО в присутствии своих субстратов (H_2O_2 , Cl⁻) разрушает активированный гидропероксид, синтезируя О-центрированные радикалы, идентифицированные как пероксильный и алкоксильный [11]. Для гидропероксида жирной кислоты возможно образование, помимо О-центрированных радикалов, некоторого количества синглетного кислорода. Ингибиторный анализ, проведенный с использованием «ловушек» НОС1, перехватчиков свободных радикалов и ингибиторов МПО, показал, что разрушение гидропероксидной группы в присутствии изолированной МПО или активированных нейтрофилов обусловлено непосредственной работой фермента [11]. Об этом же свидетельствуют обнаруженные авторами связи между интенсификацией системного синтеза ГПА и повышением пероксидазной активности гранулоцитов бронхов у больных с гиперреактивностью дыхательных путей.

Постулат об индукции ПОЛ, основанной на усилении лейкоцитарного синтеза и секреции МПО путем активации нейтрофилов, согласуется с современными представлениями о бронхоспастической реакции как следствии гиперпродукции в тканях АФК, АФГ и свободных радикалов [2, 3, 5]. О причастности активации окислительного (галогенирующего) стресса и гранулоцитарного

го сегмента воспаления к механизму нарушения проходимости бронхов у больных с осмотической и холодовой гиперреактивностью дыхательных путей можно судить по найденным корреляциям между показателями функции внешнего дыхания и статусом гранулоцитов, определяющим, в свою очередь, уровень образования продуктов ПОЛ.

Таким образом, характерной особенностью бронхиального воспаления у больных БА с холодовой и осмотической гиперреактивностью дыхательных путей является высокая функциональная активность гранулярных лейкоцитов, наиболее выраженная для нейтрофильного пула. Активация бронхиальных нейтрофилов под воздействием цитокиновой регуляции может рассматриваться в качестве фактора, потенцирующего развитие и поддержание гиперреактивности дыхательных путей за счет высокой пероксидазной активности крови, системной окислительной деградации липидов, оксидантной активации TRP-рецепторов клеток стромы и паренхимы респираторного тракта.

ВЫВОДЫ

1. У больных БА с чрезмерной реакцией дыхательных путей на холодовую и осмотические стимулы обнаружена существенная взаимосвязь между характером цитокинового профиля Th1 и Th2, структурой гранулоцитарного сегмента воспаления бронхов, ферментативной функцией гранулоцитов, активностью миелопероксидазы и системным уровнем образования недоокисленных продуктов ПОЛ.

2. Повышение количества и ферментативной активности нейтрофилов бронхиального инфильтрата является характерной особенностью структурной организации воспаления и определяет оксидативный статус бронхов, пероксидазную активность крови, системную окислительную деградацию липидов у больных БА с холодовой и осмотической гиперреактивностью дыхательных путей.

3. Активация гранулоцитарного сегмента бронхиального воспаления у больных БА влияет на развитие и поддержание неспецифической гиперреактивности дыхательных путей за счет эскалации оксидативного стресса и персистенции воспаления.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Пирогов А.Б. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация

данных. Приходько А.Г. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального материала. Зиновьев С.В. – анализ и интерпретация данных. Бородин Е.А. – анализ и интерпретация данных. Ушакова Е.В. – анализ и интерпретация данных. Макарова Г.А. – анализ и интерпретация данных. Перельман Ю.М. – проверка критически важного интеллектуального материала, окончательное утверждение для публикации рукописи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

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

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Клиническое исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным комитетом по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (протокол № 81Т от 29.07.2014).

ЛИТЕРАТУРА

1. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011: 204.
2. Нахамчен Л.Г., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Ульяничев Н.В., Воропаева Р.В. Функциональная характеристика и клинические проявления реакции дыхательных путей на физическую нагрузку у больных бронхиальной астмой // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; (61): 8–15. DOI: 10.12737/21433 (in Russian).
3. Anderson S.D., Kippelen P. Airway injury as a mechanism for exercise-induced bronchoconstriction in elite athletes // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122: 225–235. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.05.001.
4. Перельман Ю.М., Наумов Д.Е., Приходько А.Г., Колосов В.П. Механизмы и проявления осмотической гиперреактивности дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2016: 240.
5. Соодаева С.К., Климанов И.А. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии // *Атмосфера. Пульмонология и аллергология*. 2009; 1: 34–38.

6. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания // *Пульмонология*. 2012; (1): 5–10.
7. Vider J., Laaksonen D.E., Kilk A., Atalay M., Lehtmaa J., Zilmer M., Sen C.K. Physical exercise induces activation of NF- κ B in human peripheral blood lymphocytes // *Antioxid Redox Signal*. 2001; 3 (6): 1131–1137. DOI: 10.1089/152308601317203639.
8. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами // *Иммунология*. 2000; 5: 11–17.
9. Маянский А.Н. НАДФ-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция // *Цитокины и воспаление*. 2007; 6 (3): 3–13.
10. Senthilmohan R, Kettle AJ. Bromination and chlorination reactions of myeloperoxidase at physiological concentrations of bromide and chloride // *Arch. Biochem. Biophys*. 2006; 445 (2): 235–244. DOI: 10.1016/j.abb.2005.07.005.
11. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры // *Вестник Российской АМН*. 2010; 1: 27–39.
12. Malle E., Marsche G., Arnhold J., Davies M.J. Modification of low-density lipoprotein by myeloperoxidase-derived oxidants and reagent hypochlorous acid // *Biochim. Biophys. Acta*. 2006; 1761 (4): 392–415. DOI: 10.1016/j.bbali.2006.03.024.
13. Pattison D.I., Davies M.J. Reactions of myeloperoxidase-derived oxidants with biological substrates: gaining chemical insight into human inflammatory diseases // *Cur. Med. Chem*. 2006; 13 (27): 3271–3290. DOI: 10.2174/092986706778773095.
14. Davies M.J. Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention // *J. Clin. Biochem. Nutr*. 2011; 48 (1): 8–19. DOI: 10.3164/jc.11-006fr.
15. Kato Y. Neutrophil myeloperoxidase and its substrates: formation of specific markers and reactive compounds during inflammation // *J. Clin. Biochem. Nutr*. 2016; 58 (2): 99–104. DOI: 10.3164/jc.15-104.
16. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe // *J. Leukocyte Biology*. 2005; 77 (5): 598–625. DOI: 10.1189/jlb.1204697.
17. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // *Успехи биологической химии*. 2013; 53: 195–244.
18. Kawai Y., Kiyokawa H., Kimura Y., Kato Y., Tsuchiya K., Terao J. Hypochlorous acid-derived modification of phospholipids: characterization of aminophospholipids as regulatory molecules for lipid peroxidation // *Biochemistry*. 2006; 45: 14201–14211. DOI: 10.1021/bi0610909.
19. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2016). URL: <http://www.ginasthma.com>.
20. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside // *Curr. Med. Chem*. 2011; 18 (10): 1415–1422. DOI: 10.2174/092986711795328337.
21. Pirogov A.B., Prikhod'ko A.G., Perelman Y.M., Zinovyev S.V., Afanasyeva E.Y., Kolosov V.P. Inflammatory pattern of the bronchial mucosa in patients with asthma with airway hyperresponsiveness to hypoosmotic stimulus // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016; 161 (4): 550–553. DOI: 10.1007/s10517-016-3458-3.
22. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В., Наумов Д.Е., Афанасьева Е.Ю. Воспалительно-клеточный состав индуцированной мокроты у больных бронхиальной астмой с разными типами реакции дыхательных путей на гиперосмолярный стимул // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; 59: 8–15.
23. Naumov D.E., Perelman J.M., Kolosov V.P., Potapova T.A., Maksimov V.N., Zhou X. Transient receptor potential melastatin 8 gene polymorphism is associated with cold-induced airway hyperresponsiveness in bronchial asthma // *Respirology*. 2015; 20 (8): 1192–1197. DOI: 10.1111/resp.12605.
24. Naumov D.E., Kolosov V.P., Perelman J.M., Prikhodko A.G. Influence of TRPV4 gene polymorphisms on the development of osmotic airway hyperresponsiveness in patients with bronchial asthma // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2016; 469 (1): 260–263. DOI: 10.1134/S1607672916040074.
25. Старикова Э.А., Амчиславский Е.И., Соколов Д.И., Фрейдлин И.С., Полосухина Е.Р., Барышников А.Ю. Изменения поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов // *Медицинская иммунология*. 2003; 5 (1–2): 39–48.
26. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // *Иммунология*. 2001; (5): 4–7.
27. Hammelmann E., Gelfand E.W. IL-5-induced airway eosinophilia the key to asthma? // *Immunol. Rev*. 2001; 179: 182–191. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2001.790118.x.
28. Иванчук И.И., Огородова Л.М., Сазонов Э.А., Кобякова О.С., Попова И.С., Копьева А.П. Влияние рекомбинантного интерлейкина-5 на апоптотическую гибель эозинофилов периферической крови больных бронхиальной астмой // *Медицинская иммунология*. 2004; 6 (1–2): 117–120.
29. Hogan S.P., Rosenberg H.F., Moqbel R., Phipps S., Foster P.S., Lacy P., Kay A.B., Rothenberg M.E. Eosinophils: biological properties and role in health and disease // *Clinical & Experimental Allergy*. 2008; 38 (5): 709–750. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2008.02958.x.

Поступила в редакцию 07.03.2017

Утверждена к печати 10.05.2017

Пирогов Алексей Борисович, канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск.

Приходько Анна Григорьевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск.

Зиновьев Сергей Викторович, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, центральная научная лаборатория, Амурская государственная медицинская академия, г. Благовещенск.

Бородин Евгений Александрович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой химии, Амурская государственная медицинская академия, г. Благовещенск.

Ушакова Елена Владимировна, канд. мед. наук, зав. клинико-диагностической лабораторией клиники, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск.

Макарова Галина Алексеевна, врач клинико-диагностической лаборатории клиники, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск.

Перельман Юлий Михайлович, д-р мед. наук, профессор, руководитель лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск.

(✉) Перельман Юлий Михайлович, e-mail: jperelman@mail.ru.

УДК 616.248-001.19-06:616.233-002-02

DOI 10.20538/1682-0363-2017-2-159-169

For citation: Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Zinov'ev S.V., Borodin E.A., Ushakova E.V., Makarova G.A., Perelman J.M. Specific features of bronchial inflammation in asthma patients with airway hyper-responsiveness to cold and osmotic stimuli. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (2): 159–169

Specific features of bronchial inflammation in asthma patients with airway hyper-responsiveness to cold and osmotic stimuli

Pirogov A.B.¹, Prikhodko A.G.¹, Zinov'ev S.V.², Borodin E.A.², Ushakova E.V.¹, Makarova G.A.¹, Perelman J.M.¹

¹ Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration
22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

² Amur State Medical Academy
95, Gorki Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Excessive airway reaction to combined effects of environmental factors is very common in patients with asthma. The understanding of the molecular-cellular mechanisms of this hyperresponsiveness is very important.

Aim. The aim of the work was to study granulocyte segment of bronchial inflammation in correlation with cytokine regulation and lipid peroxidation in patients with airway hyperresponsiveness to cold and osmotic stimuli.

Materials and methods. In 43 patients with partially controlled and uncontrolled persistent asthma with cold and osmotic airway hyperresponsiveness (group 1) asthma symptoms and lung function were assessed, the level of IL-5, IL-12 in exhaled breath condensate (EBC) and the total amount of myeloperoxidase (MPO) in induced sputum (IS) were measured; the number of neutrophils and eosinophils in smears of IS was counted. Basing on cytological and cytochemical analysis of smears of IS, the activity coefficients of MPO in granular leukocytes, the degree of cell destruction and the intensity of cytolysis were calculated. The contents of lipid hydroperoxide (LHP) and MPO in the blood serum were measured. A control group (group 2) consisted of asthma patients without airway reaction to cold and osmotic stimuli (11 people).

Results. In the first group in comparison with the second one high levels of IL-12 were found ($2,94 \pm 0,09$ vs. $2,53 \pm 0,13$ pg/mL; $p = 0,024$), IL-5 ($3,64 \pm 0,37$ vs. $2,15 \pm 0,14$ pg/mL; $p = 0,0001$); the increase of neutrophils in IM ($35,4 \pm 3,5$ vs. $17,2 \pm 2,0\%$; $p = 0,014$); higher granulocytes cytolysis ($0,38 \pm 0,02$ vs.

0,26 ± 0,02; $p = 0,013$), which correlated for neutrophils with the level of IL-12 ($r = 0,46$; $p = 0,026$); there was found out the increase of MPO concentration in IS ($199,7 \pm 49,0$ vs. $81,4 \pm 26,2$ pixels; $p = 0,039$). The increased level of LHP in the blood serum correlated with the level of MPO in IS ($r = 0,48$; $p = 0,039$) and IL-5 in EBC ($r = 0,71$; $p = 0,031$).

Conclusion. Airway hyperresponsiveness to cold and osmotic stimuli in patients with asthma is characterized by the relationship between the nature of Th1 and Th2 cytokine profile, the structure of granulocyte segment of bronchial inflammation, the enzymatic function of granulocytes, MPO activity and systemic formation of suboxidized lipid peroxidation products. Activation of granulocyte segment of inflammatory pattern in patients with asthma may be considered a factor of influence on the development and maintenance of airway hyperresponsiveness due to the escalation of oxidative stress and persistent inflammation.

Key words: asthma, airway hyperresponsiveness, neutrophils and eosinophils, inflammation, cytokines, myeloperoxidase, lipid peroxidation.

REFERENCES

- Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Giperreaktivnost' dykhatel'nykh putey. [Airway hyperresponsiveness]. Vladivostok: Dal'nauka Publ., 2011 (in Russian).
- Nakhamchen L.G., Perelman J.M., Prikhodko A.G., Ul'yanychev N.V., Voropayeva R.V. Funktsional'naya kharakteristika i klinicheskiye proyavleniya reaktsii dykhatel'nykh putey na fizicheskuyu nagruzku u bol'nykh bronkhial'noy astmoy [Functional characteristic and clinic manifestations of airway response to exercise load in patients with asthma] // *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya – Bulletin physiology and pathology of respiration*. 2016; 61: 8–15. DOI: 10.12737/21433 (in Russian).
- Anderson S.D., Kippelen P. Airway injury as a mechanism for exercise-induced broncho-constriction in elite athletes // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122: 225–235. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.05.001
- Perelman J.M., Naumov D.E., Prikhodko A.G., Kolosov V.P. Mekhanizmy i proyavleniya osmoticheskoy giperreaktivnosti dykhatel'nykh putey [Mechanisms and manifestations of osmotic airway hyperresponsiveness]. Vladivostok: Dal'nauka Publ., 2016: 240 (in Russian).
- Soodaeva S.K., Klimanov I.A. Narusheniya okislitel'nogo metabolizma pri zabelevaniyakh respiratornogo trakta i sovremennyye podkhody k antioksidantnoy terapii [Disorders of oxidative metabolism in respiratory diseases and modern approaches to antioxidant therapy] // *Atmosfera. Pul'monologiya i allergologiya. – Atmosphere. Pulmonology and Allergology*. 2009; 1: 34–38 (in Russian).
- Soodaeva S.K. Svobodnoradikal'nyye mekhanizmy povrezhdeniya pri boleznyakh organov dykhaniya [Free radical mechanisms of injury in respiratory disease] // *Pul'monologiya – Pulmonology*. 2012; 1: 5–10 (in Russian).
- Vider J., Laaksonen D.E., Kilk A., Atalay M., Lehtmaa J., Zilmer M., Sen C.K. Physical exercise induces activation of NF-kappaB in human peripheral blood lymphocytes // *Antioxid Redox Signal*. 2001; 3 (6):1131–1137. DOI: 10.1089/152308601317203639.
- Vasil'eva G.I., Ivanova I.A., Tjukavkina S.Ju. Kooperativnoye vzaimodeystviye mono- i polinuklearynykh fagotsitov, oposredovannoye mono- i neytrofilokinami [Cooperative interaction of mono- and polynuclear phagocytes mediated mono- and neutrophilokine] // *Immunologiya – Immunology*. 2000; 5: 11–17 (in Russian).
- Majanskij A.N. NADF-oksidaza neytrofilov: aktivatsiya i regulyatsiya [NADPH oxidase of neutrophils: activation and regulation] // *Tsitokiny i vospaleniye – Cytokines and Inflammation*. 2007; 6 (3): 3–13 (in Russian).
- Senthilmohan R., Kettle A.J. Bromination and chlorination reactions of myeloperoxidase at physiological concentrations of bromide and chloride // *Arch. Biochem. Biophys.* 2006; 445 (2): 235–244. DOI: 10.1016/j.abb.2005.07.005.
- Panasenko O.M., Sergienko V.I. Galogeniruyushchiy stress i ego biomarkery [Halogenating stress and biomarkers] // *Vestnik Rossijskoj AMN*. 2010; 1: 27–39 (in Russian).
- Malle E., Marsche G., Arnhold J., Davies M.J. Modification of low-density lipoprotein by myeloperoxidase-derived oxidants and reagent hypochlorous acid // *Biochim. Biophys. Acta*. 2006; 1761(4): 392–415. DOI: 10.1016/j.bbali.2006.03.024.
- Pattison D.I., Davies M.J. Reactions of myeloperoxidase-derived oxidants with biological substrates: gaining chemical insight into human inflammatory diseases // *Cur. Med. Chem.* 2006; 13 (27): 3271–3290. DOI: 10.2174/092986706778773095
- Davies M.J. Myeloperoxidase-derived oxidation: mechanisms of biological damage and its prevention // *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2011; 48 (1): 8–19. DOI: 10.3164/jc.11-006fr.
- Kato Y. Neutrophil myeloperoxidase and its substrates: formation of specific markers and reactive compounds during inflammation // *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2016; 58 (2): 99–104. DOI: 10.3164/jc.15-104.
- Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe // *J. Leukocyte Biology*. 2005; 77 (5): 598–625. DOI: 10.1189/jlb.1204697.
- Panasenko O.M., Gorudko I.V., Sokolov A.V. Khlornovativistaya kislota kak predshestvennik svobodnykh radikalov v zhivykh sistemakh [Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems] // *Uspehi biologicheskoy himii*. 2013; 53: 195–244 (in Russian).

18. Kawai Y., Kiyokawa H., Kimura Y., Kato Y., Tsuchiya K., Terao J. Hypochlorous acid-derived modification of phospholipids: characterization of aminophospholipids as regulatory molecules for lipid peroxidation // *Biochemistry*. 2006; 45: 14201–14211. DOI: 10.1021/bi0610909.
19. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and pre-vention (Updated 2016). URL: <http://www.ginasthma.com>.
20. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside // *Curr. Med. Chem.* 2011; 18 (10): 1415–1422. DOI: 10.2174/092986711795328337.
21. Pirogov A.B., Prikhod'ko A.G., Perelman Y.M., Zinov'ev S.V., Afanasyeva E.Y., Kolosov V.P. Inflammatory pattern of the bronchial mucosa in patients with asthma with airway hyperresponsiveness to hypoosmotic stimulus // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2016; 161 (4): 550–553. DOI: 10.1007/s10517-016-3458-3.
22. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M., Zinov'ev S.V., Naumov D.E., Afanas'eva E.Yu. Vospalitel'no-kletochnyy sostav indutsirovannoy mokroty u bol'nykh bronkhial'noy astmoy s raznymi tipami reaktsii dykhatel'nykh putey na giperosmolyarnyy stimul [Inflammatory-cellular composition of the induced sputum in patients with asthma with different types of airway response to hyperosmolar stimulus] // *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya – Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2016; (59): 8–15 (in Russian).
23. Naumov D.E., Perelman J.M., Kolosov V.P., Potapova T.A., Maksimov V.N., Zhou X. Transient receptor potential melastatin 8 gene polymorphism is associated with cold-induced airway hyperresponsiveness in bronchial asthma // *Respirology*. 2015; 20 (8): 1192–1197. DOI: 10.1111/resp.12605.
24. Naumov D.E., Kolosov V.P., Perelman J.M., Prikhodko A.G. Influence of TRPV4 gene polymorphisms on the development of osmotic airway hyperresponsiveness in patients with bronchial asthma // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2016; 469 (1): 260–263. DOI: 10.1134/S1607672916040074.
25. Starikova Je.A., Amchislavskij E.I., Sokolov D.I., Frejdlin I.S., Polosuhina E.R., Baryshnikov A.Ju. Izmeneniya poverkhnostnogo fenotipa endotelial'nykh kletok pod vliyaniem provospalitel'nykh i protivovospalitel'nykh tsitokinov [Changes in the surface phenotype of endothelial cells under the influence of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines] // *Medicinskaja immunologija – Medical Immunology*. 2003; 5 (1–2): 39–48 (in Russian).
26. Frejdlin I.S. Parakrinnyye i autokrinnyye mekhanizmy tsitokinovoy immunoregulyatsii [Paracrine and autocrine mechanisms of cytokine immunoregulation] // *Immunologija – Immunology*. 2001; 5: 4–7 (in Russian).
27. Hammelmann E., Gelfand E.W. IL-5-induced airway eosinophilia the key to asthma? // *Immunol. Rev.* 2001; 179: 182–191. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2001.790118.x.
28. Ivanchuk I.I., Ogorodova L.M., Sazonov Je.A., Kobjakova O.S., Popova I.S., Kop'eva A.P. Vliyaniye rekombinantnogo interleykina-5 na apoptoticheskuyu gibel' eozinofilov perifericheskoy krovi bol'nykh bronkhial'noy astmoy [Effect of recombinant human interleukin-5 in the apoptotic death of peripheral blood eosinophils in patients with bronchial asthma] // *Medicinskaja immunologija – Medical Immunology*. 2004; 6 (1–2): 117–120 (in Russian).
29. Hogan S.P., Rosenberg H.F., Moqbel R., Phipps S., Foster P.S., Lacy P., Kay A.B., Rothenberg M.E. Eosinophils: biological properties and role in health and disease // *Clinical & Experimental Allergy*. 2008; 38 (5): 709–750. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2008.02958.x.

Received March 07.2017

Accepted May 10.2017

Pirogov Aleksey B., PhD, Senior Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Nonspecific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveshchensk, Russian Federation.

Prihodko Anna G., DM, Professor, Leading Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveshchensk, Russian Federation.

Zinov'ev Sergey V., PhD, Senior Scientist, Central Science Laboratory, Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk, Russian Federation.

Borodin Eugen A., DM, Professor, Head of the Department of Biochemistry, Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk, Russian Federation.

Ushakova Elena V., PhD, Head of the Clinical Laboratory, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveshchensk, Russian Federation.

Makarova Galina A., Physician, Clinical Laboratory, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveshchensk, Russian Federation.

Perelman Juliy M., DM, Professor, Head of the Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveshchensk, Russian Federation.

(✉) Perelman Juliy M., e-mail: jperelman@mail.ru.