

УДК 616-002-008.953-092:616-002.2:616-092.11:616.233-002:613.84:577.29

DOI: 10.36604/1998-5029-2023-87-62-70

## ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

О.О.Котова, Д.А.Гассан, И.Ю.Сугайло, Д.Е.Наумов, Я.Г.Горчакова, Е.Г.Шелудько

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

**РЕЗЮМЕ. Введение.** Известно, что оксидативный стресс способен приводить к различным патологическим изменениям со стороны клеток и тканей человеческого организма, а также во многом может объяснять нарушения, наблюдаемые при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). **Цель.** Изучить выраженность оксидативного стресса в лейкоцитах периферической крови у больных ХОБЛ. **Материалы и методы.** Обследовано 23 больных ХОБЛ различной степени тяжести, 8 курящих лиц без признаков бронхиальной обструкции и 9 здоровых, никогда не куривших добровольцев. Всем испытуемым проведена спирометрия для оценки вентиляционной функции легких. Уровень оксидативного стресса определяли методом проточной цитометрии путем добавления к изолированным лейкоцитам периферической крови 10 мкМ 2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата, в базальных условиях и на фоне провоспалительной стимуляции с 0,1 нг/мл форбол-12-миристан-13-ацетата (РМА). **Результаты.** Больные ХОБЛ демонстрировали повышенные уровни внутриклеточного оксидативного стресса по сравнению с лицами контрольной группы, как в базальных условиях, так и на фоне стимуляции РМА ( $p < 0,05$ ). При анализе в подгруппах стимуляция приводила к значимому нарастанию оксидативного стресса вне зависимости от типа клеток ( $p < 0,01$ ). Курильщики склонны иметь повышенные значения измеренных показателей, занимая промежуточное положение между никогда не курившими добровольцами и больными ХОБЛ. Абсолютный прирост показателя оксидативного стресса был выше в клетках больных ХОБЛ, значения относительного прироста были практически идентичными в исследуемых группах. Динамика оксидативного стресса в клетках курильщиков имела тенденцию быть более выраженной по сравнению с некурящими. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о том, что лейкоциты больных ХОБЛ отличаются более высоким уровнем внутриклеточного оксидативного стресса. Кроме того, обнаружено, что курение является фактором развития оксидативного стресса у здоровых лиц.

*Ключевые слова:* оксидативный стресс, ХОБЛ, курение, лейкоциты.

## OXIDATIVE STRESS IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

O.O.Kotova, D.A.Gassan, I.Yu.Sugaylo, D.E.Naumov, Y.G.Gorchakova, E.G.Sheludko

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

**SUMMARY. Introduction.** It is known that oxidative stress causes pathological changes in the tissues and organs of the human body and in many cases it can explain the disorders associated with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Aim.** The aim of the study was to investigate the degree of oxidative stress in peripheral blood leukocytes of COPD patients. **Materials and methods.** We examined 23 patients with COPD of varying severity, 8 smokers without signs of bronchial obstruction and 9 healthy volunteers who had never smoked. All subjects underwent spirometry to assess lung function. The level of oxidative stress was determined using flow cytometry by adding 10  $\mu$ M 2',7'-dichloro-

### Контактная информация

Олеся Олеговна Котова, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: foxy\_voxy\_on@mail.ru

### Correspondence should be addressed to

Olesya O. Kotova, PhD (Med.), Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: foxy\_voxy\_on@mail.ru

### Для цитирования:

Котова О.О., Гассан Д.А., Сугайло И.Ю., Наумов Д.Е., Горчакова Я.Г., Шелудько Е.Г. Оксидативный стресс в лейкоцитах периферической крови больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2023. Вып.87. С.62–70. DOI: 10.36604/1998-5029-2023-87-62-70

### For citation:

Kotova O.O., Gassan D.A., Sugaylo I.Yu., Naumov D.E., Gorchakova Y.G., Sheludko E.G. Oxidative stress in peripheral blood leukocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2023; (87):62–70 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2023-87-62-70

dihydrofluorescein diacetate to isolated peripheral blood leukocytes, in basal conditions and under pro-inflammatory stimulation with 0.1 ng/ml phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA). **Results.** Patients with COPD demonstrated elevated levels of intracellular oxidative stress compared with controls both under basal conditions and during PMA stimulation ( $p < 0.05$ ). When analyzed in subgroups, stimulation led to a significant increase in oxidative stress regardless of cell type ( $p < 0.01$ ). Smokers tend to have elevated measured values, occupying an intermediate position between non-smokers and COPD patients. The absolute increase in the oxidative stress index was higher in the cells of COPD patients; the values of the relative increase were almost identical in the studied groups. The dynamics of oxidative stress in the cells of smokers tended to be more pronounced than in non-smokers. **Conclusion.** The obtained results indicate that the leukocytes of COPD patients are characterized by a higher level of intracellular oxidative stress. In addition, smoking has been found to be a factor of oxidative stress development in healthy individuals.

*Key words:* oxidative stress, COPD, smoking, leukocytes.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) представляет собой широко распространенное заболевание с высокой смертностью и социально-экономическим бременем. Во всем мире от ХОБЛ страдает 10,3 95% доверительный интервал (ДИ) (8,2–12,8)% или 391,9 95%ДИ (312,6–487,9) млн человек в возрасте от 30 до 79 лет. По некоторым данным в отдельных регионах заболеваемость может достигать 20-30%. К факторам риска, способствующим развитию данного заболевания, относятся мужской пол, курение, низкий индекс массы тела, контакт с пылью, дымом, биомассой [1].

Оксидативный, или окислительный, стресс представляет собой дисбаланс между повреждающим действием активных форм кислорода и способностью организма к восстановительным процессам, в результате чего происходит повреждение клеток. В норме образование активных форм кислорода точно контролируется в аспекте длительности, локализации и количества, а также в зависимости от стимула [2]. При условии адекватного уровня продукции, они не вызывают оксидативный стресс, но играют важную роль в элиминации микробных патогенов и регуляции различных клеточных функций [3]. К примеру, возрастание продукции активных форм кислорода митохондриями является необходимым механизмом, обеспечивающим фенотипические изменения макрофагов с провоспалительной поляризацией клеток под действием липополисахаридов. Установлено, что стимуляция липополисахаридами сопровождается переключением с окислительного фосфорилирования на гликолиз с одновременным увеличением образования сукцината, его окислением и ростом мембранного потенциала митохондрий, что в конечном итоге приводит к продукции активных форм кислорода. При этом ингибирование окисления сукцината либо образования активных форм кислорода полностью предотвращает провоспалительные изменения в фенотипе клеток, что подтверждается данными транскриптомного секвенирования [4].

Необходимо отметить, что оксидативный стресс также имеет большое значение в развитии патологических процессов, характерных для многих хронических респираторных заболеваний, в том числе ХОБЛ. В частности, высокая концентрация активных форм кис-

лорода приводит к накоплению продуктов перекисного окисления липидов, которые способны индуцировать апоптоз и нарушать барьерную функцию эпителия и эндотелия. Оксидативный стресс различными путями приводит к активации транскрипционных факторов, в том числе NFκB и AP-1, благодаря чему поддерживается высокий уровень продукции провоспалительных цитокинов, что объясняет наличие хронического воспаления [5]. Кроме этого, он может быть причиной развития дисфункции митохондрий, которая проявляется в повышенной продукции активных форм кислорода, снижении интенсивности окислительного фосфорилирования и энергетического обеспечения клетки, повреждении митохондриальной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), а также накоплению молекул DAMP, ассоциированных с повреждением и запускающих воспалительную реакцию [6]. Оксидативный стресс нарушает нормальный фолдинг белков, приводя к развитию стресса эндоплазматического ретикулума [7]. Активные формы кислорода могут изменять эпигенетический фон клетки, прямым или опосредованным образом влияя на процессы метилирования и ацетилирования ДНК, что приводит к нарушению нормальной экспрессии различных генов [8]. Отмечено неблагоприятное влияние кислородных радикалов на ремоделирование тканей и мукоцилиарный клиренс. В частности, они способны стимулировать избыточную продукцию внеклеточного матрикса фибробластами, а также вызывать гиперсекрецию муцина MUC5AC клетками респираторного эпителия [9, 10]. Наконец, наиболее важно, что оксидативный стресс может рассматриваться как одна из основных причин ускоренного клеточного старения. Предполагается, что в данном процессе важную роль играет индукция синтеза микроРНК 34a, которая подавляет продукцию сиртуинов 1 и 6, что ведет к клеточному старению. Благодаря тому, что микроРНК способна переноситься с помощью микровезикулярного транспорта, признаки клеточного старения отмечаются не только в легких, но и в других органах, чем обусловлено большое количество коморбидной патологии, характерной для ХОБЛ [11].

Целью настоящей работы было исследовать выраженность оксидативного стресса в лейкоцитах периферической крови у больных ХОБЛ по сравнению со

здоровыми лицами.

### Материалы и методы исследования

Исследование проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Все лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания».

В исследование было включено 23 больных ХОБЛ

различной степени тяжести, 8 курящих лиц без признаков бронхиальной обструкции и 9 здоровых, никогда не куривших добровольцев. Возраст обследуемых составил  $60,8 \pm 1,64$ ,  $56,0 \pm 3,55$  и  $50,7 \pm 3,18$  лет, соответственно. Больные ХОБЛ были значимо старше, чем некурящие лица контрольной группы ( $p=0,006$ ). Все обследованные были лицами мужского пола. Большинство (65,2%) больных ХОБЛ имели III стадию заболевания согласно GOLD, в меньшей степени были представлены больные с I и II (по 13%) и IV стадией (8,8%). Сравнительная характеристика спирометрических показателей больных ХОБЛ и курильщиков без признаков бронхиальной обструкции представлена в таблице 1. Индекс курильщика в группе больных ХОБЛ составил 40,0 (30,0; 60,0) пачка-лет, в группе здоровых курильщиков – 31,5 (23,5; 35,0) пачка-лет ( $p=0,07$ ).

Таблица 1

### Показатели вентиляционной функции легких у больных ХОБЛ и курильщиков без признаков бронхиальной обструкции

Показатель	Больные ХОБЛ (n=23)	Курильщики без бронхиальной обструкции (n=8)	Значимость различий (p)
ФЖЕЛ, % долж.	71,0 (60,0; 81,0)	86,5 (78,0; 96,0)	0,13
ОФВ <sub>1</sub> , % долж.	42,0 (33,0; 58,0)	82,0 (71,0; 101,0)	0,001
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, %	52,0 (42,0; 65,5)	79,0 (70,0; 84,0)	<0,001
ПОС, % долж.	48,5 (43,0; 58,0)	74,0 (50,0; 97,0)	0,07
МОС <sub>25</sub> , % долж.	19,0 (14,0; 38,0)	70,5 (55,0; 129,0)	<0,001
МОС <sub>50</sub> , % долж.	13,0 (10,0; 27,0)	75,0 (55,0; 129,0)	<0,001
МОС <sub>75</sub> , % долж.	18,0 (12,0; 19,0)	65,0 (38,0; 83,0)	<0,001
СОС <sub>25-75</sub> , % долж.	17,0 (12,0; 24,0)	74,0 (44,0; 113,0)	<0,001

С целью оценки степени бронхиальной обструкции всем больным было выполнено спирометрическое исследование на аппарате Easy on-PC (niddMedizintechnik AG, Швейцария). При этом оценивали величины объема форсированного выдоха за 1-ю сек. (ОФВ<sub>1</sub>), соотношение ОФВ<sub>1</sub> к форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), пиковую объемную скорость (ПОС), максимальную объемную скорость на уровнях 25% ФЖЕЛ (МОС<sub>25</sub>), 50% ФЖЕЛ (МОС<sub>50</sub>), 75% ФЖЕЛ (МОС<sub>75</sub>), а также среднюю объемную скорость (СОС<sub>25-75</sub>).

Периферическую венозную кровь отбирали в пробирку, содержащую этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), эритроциты лизировали 15 мин. с буфером BD Pharm Lyse (BD Biosciences, США) и однократно отмывали фосфатно-солевым буфером согласно протоколу производителя для получения суспензии лейкоцитов. Осадок лейкоцитов ресуспендировали в растворе солей Хэнкса (HBSS) без фенолового красителя, содержащем 10 мкМ

2',7'-дихлордигидрофлуоресцеина диацетата (H2DCF-DA). H2DCF-DA, попадая в клетку, окисляется (преимущественно при участии H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) и приобретает флуоресцентные свойства, благодаря чему удается оценить уровень продукции активных форм кислорода. Использование проточной цитометрии исключает детекцию сигнала от окисленного H2DCF-DA, покинувшего цитоплазму, таким образом, удается измерить только внутриклеточный окислительный стресс в моноцитах, лимфоцитах и гранулоцитах. К дополнительной аликвоте клеток кроме этого добавляли форбол-12-миристан-13-ацетат (PMA), действие которого преимущественно основано на активации протеинкиназы C и транскрипционного фактора NFκB, до конечной концентрации 0,1 нг/мл с целью оценки анализируемых параметров на фоне провоспалительной активации. Клетки инкубировали в термостате при 37°C 30 мин., после чего анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (Becton Dickinson, США). Популяции моноцитов, лимфоцитов и гранулоцитов

гейтировали на графиках FSC и SSC. Величину сигнала измеряли на канале FITC. Результат выражали в виде нормализованной медианной интенсивности флуоресценции (nMFI). Дополнительно рассчитывали производные величины – абсолютное и относительное (выраженное в процентах от исходного уровня) изменение в уровне сигнала.

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Все данные представлены в формате  $M \pm m$  – среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего, либо  $Me (Q_1; Q_3)$  – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных

переменных выполняли с помощью критерия U Манна-Уитни или критерия Вилкоксона (для зависимых выборок). В качестве критического уровня значимости принимали значение 0,05.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Больные ХОБЛ демонстрировали повышенные уровни внутриклеточного оксидативного стресса по сравнению с лицами контрольной группы, как в базальных условиях, так и на фоне стимуляции РМА (табл. 2). При анализе в группах стимуляция приводила к значимому нарастанию оксидативного стресса вне зависимости от типа клеток и наличия заболевания.

Таблица 2

Показатели оксидативного стресса в лейкоцитах периферической крови больных ХОБЛ и лиц контрольной группы в базальных условиях и на фоне стимуляции РМА

Показатель (nMFI)	Больные ХОБЛ (n=23)	Лица без бронхиальной обструкции (n=17)	Значимость различий (p)
Оксидативный стресс (моноциты)	723,5 (367,7; 902,1)	255,4 (103,7; 493,2)	0,009
Оксидативный стресс + РМА (моноциты)	997,8 (502,6; 1332,0)	363,0 (245,1; 621,2)	0,01
	$p_s=0,002$	$p_s<0,001$	
Оксидативный стресс (лимфоциты)	519,2 (302,9; 696,3)	239,9 (103,7; 498,9)	0,04
Оксидативный стресс + РМА (лимфоциты)	767,6 (398,5; 946,3)	443,9 (192,6; 661,5)	0,04
	$p_s=0,007$	$p_s<0,001$	
Оксидативный стресс (гранулоциты)	378,9 (180,6; 585,2)	207,2 (72,8; 330,8)	0,03
Оксидативный стресс + РМА (гранулоциты)	747,4 (319,5; 1061,9)	446,8 (185,7; 644,5)	0,07
	$p_s=0,001$	$p_s<0,001$	

*Примечание.* Здесь и в таблице 3:  $p_s$  – значимость различий показателей оксидативного стресса в стимулированных и не стимулированных клетках.

Несмотря на то, что статистически значимых различий в показателях оксидативного стресса между подгруппами курильщиков без признаков бронхиальной обструкции и никогда не куривших лиц обнаружено не было, заметно, что курильщики склонны иметь повышенные значения измеренных показателей, занимая промежуточное положение между некурящими добровольцами и больными ХОБЛ (табл. 3). Воздействие РМА приводило к достоверной положительной динамике показателя оксидативного стресса в лейкоцитах вне зависимости от статуса курения.

При сравнении производных показателей, характеризующих абсолютную и относительную динамику оксидативного стресса в ответ на стимуляцию РМА, не было выявлено значимых различий между больными

ХОБЛ и контрольной группой (табл. 4). Можно заметить, что несмотря на то, что абсолютный прирост показателя оксидативного стресса был выше в клетках больных ХОБЛ, значения относительного прироста были практически идентичными.

Примечательно, что динамика оксидативного стресса в клетках курильщиков имела тенденцию быть более выраженной по сравнению с некурящими лицами (табл. 5). Данная особенность была наиболее заметна для моноцитов и лимфоцитов. Более того, относительный прирост оксидативного стресса в моноцитах и лимфоцитах под действием РМА был более выражен у курильщиков без бронхиальной обструкции даже по сравнению с больными ХОБЛ, хотя различия не были значимы статистически.

Таблица 3

Показатели оксидативного стресса в лейкоцитах периферической крови курильщиков без бронхиальной обструкции и никогда не куривших здоровых добровольцев в базальных условиях и на фоне стимуляции РМА

Показатель (nMFI)	Курильщики без бронхиальной обструкции (n=8)	Никогда не курившие лица (n=9)	Значимость различий (p)
Оксидативный стресс (моноциты)	374,3 (107,3; 725,1)	170,0 (82,7; 336,1)	0,37
Оксидативный стресс + РМА (моноциты)	576,3 (298,0; 937,7)	357,1 (73,7; 584,2)	0,28
	$p_s=0,01$	$p_s=0,02$	
Оксидативный стресс (лимфоциты)	369,4 (103,1; 665,8)	174,9 (114,1; 427,5)	0,42
Оксидативный стресс + РМА (лимфоциты)	556,9 (267,2; 837,8)	425,1 (125,1; 553,1)	0,24
	$p_s=0,01$	$p_s=0,007$	
Оксидативный стресс (гранулоциты)	322,8 (71,0; 429,9)	137,0 (74,4; 268,2)	0,37
Оксидативный стресс + РМА (гранулоциты)	529,5 (316,3; 663,5)	298,9 (107,1; 542,4)	0,32
	$p_s=0,01$	$p_s=0,007$	

Таблица 4

Абсолютная и относительная динамика показателей оксидативного стресса в лейкоцитах периферической крови больных ХОБЛ и лиц контрольной группы в ответ на стимуляцию РМА

Показатель	Больные ХОБЛ (n=23)	Лица без бронхиальной обструкции (n=17)	Значимость различий (p)
Оксидативный стресс абс. (моноциты)	180,4 (48,9; 476,1)	86,9 (31,5; 259,3)	0,50
Оксидативный стресс отн. (моноциты)	33,8 (7,1; 86,3)	33,4 (15,6; 100,5)	0,66
Оксидативный стресс абс. (лимфоциты)	160,9 (20,5; 324,8)	110,2 (50,5; 206,6)	0,84
Оксидативный стресс отн. (лимфоциты)	34,9 (5,7; 93,1)	40,6 (27,4; 78,7)	0,54
Оксидативный стресс абс. (гранулоциты)	382,0 (85,3; 541,7)	131,9 (77,7; 284,6)	0,28
Оксидативный стресс отн. (гранулоциты)	98,5 (32,5; 150,0)	77,3 (43,9; 168,5)	0,92

Таблица 5

Абсолютная и относительная динамика показателей оксидативного стресса в лейкоцитах периферической крови курильщиков без признаков бронхиальной обструкции и здоровых никогда не куривших лиц в ответ на стимуляцию РМА

Показатель	Курильщики без бронхиальной обструкции (n=8)	Никогда не курившие лица (n=9)	Значимость различий (p)
Оксидативный стресс абс. (моноциты)	128,9 (86,2; 390,3)	31,5 (21,4; 104,6)	0,04
Оксидативный стресс отн. (моноциты)	49,4 (25,5; 204,3)	18,2 (9,7; 45,5)	0,16
Оксидативный стресс абс. (лимфоциты)	147,7 (98,4; 280,6)	79,7 (11,0; 125,6)	0,11
Оксидативный стресс отн. (лимфоциты)	45,6 (36,6; 188,2)	29,4 (17,0; 45,6)	0,14
Оксидативный стресс абс. (гранулоциты)	208,3 (97,1; 380,0)	117,9 (32,7; 165,5)	0,32
Оксидативный стресс отн. (гранулоциты)	86,1 (56,7; 291,5)	61,7 (43,9; 103,1)	0,67

Выявленные особенности выглядят закономерно и находят подтверждение в научной литературе. Сигаретный дым считается основным фактором риска ХОБЛ. Известно, что многочисленные токсичные вещества, присутствующие в сигаретном дыме, вызывают оксидативный стресс и воспаление дыхательных путей, что еще больше усугубляет течение заболевания. Так, уровень маркера оксидативного стресса 8-изопростана в конденсате выдыхаемого воздуха возрастает у здоровых курильщиков, но еще сильнее увеличивается при ХОБЛ. О негативных эффектах оксидативного стресса уже говорилось. В частности, он ассоциирован с воспалением, резистентностью к глюкокортикоидам, клеточным старением, повреждением ДНК, секрецией слизи и активацией аутоиммунного процесса [12].

В нашем исследовании было продемонстрировано, что курение табака не ограничивается только местным воздействием на респираторный тракт, но и способно системно индуцировать повышенную продукцию активных форм кислорода. Дисбаланс оксидантной и антиоксидантной систем с преобладанием активности первой играет одну из важнейших ролей в патогенезе ХОБЛ. В крови курящих больных обнаруживаются высокие концентрации продуктов перекисного окисления липидов и, одновременно с этим, сниженная концентрация и активность ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, каталазы) [13].

Более выраженное нарастание продукции активных форм кислорода в клетках курильщиков без признаков бронхиальной обструкции в ответ на стимуляцию может быть обусловлено повышенной активностью эндогенных сигнальных механизмов, оказывающих си-

нергетический эффект с РМА. При этом у здоровых никогда не куривших лиц данные механизмы находятся в неактивном состоянии, а у больных ХОБЛ, напротив, избыточно активированы, что ограничивает силу дополнительного эффекта от экспериментальной стимуляции.

В настоящее время в рамках лечения пациентов с ХОБЛ большое внимание уделяется препаратам, обладающим антиоксидантными свойствами. Например, эффективность применения N-ацетилцистеина в высоких дозах продемонстрирована в нескольких крупных фармакологических исследованиях [14, 15]. Кроме того, в недавних работах были изучены антиоксидантные свойства алкалоида берберина и экстракта листьев *Ocimum sanctum in vivo* и *in vitro* [16].

#### Выводы

В результате исследования впервые установлено, что продукция активных форм кислорода существенно выше в лейкоцитах периферической крови больных ХОБЛ. При этом у курящих лиц без признаков бронхиальной обструкции также отмечалось некоторое увеличение степени оксидативного стресса в клетках, по сравнению со здоровыми некурящими лицами, не достигающее, однако, величин, наблюдаемых при ХОБЛ. Стимуляция РМА сопровождалась аналогичным относительным приростом изучаемого показателя у больных и здоровых лиц. При этом отмечалась более выраженная относительная динамика оксидативного стресса в моноцитах и лимфоцитах курильщиков без бронхиальной обструкции по сравнению со здоровыми и больными ХОБЛ. Интерес для дальнейшего изучения представляет взаимосвязь уровня внутриклеточного оксидативного стресса с формированием бронхиаль-

ной обструкции у курильщиков при долгосрочном наблюдении.

**Конфликт интересов**

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

**Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest

**Источники финансирования**

Исследование проводилось без участия спонсоров

**Funding Sources**

This study was not sponsored

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Adeloye D., Song P., Zhu Y., Campbell H., Sheikh A., Rudan I.; NIHR RESPIRE Global Respiratory Health Unit. Global, regional, and national prevalence of, and risk factors for, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 2019: a systematic review and modelling analysis // *Lancet Respir. Med.* 2022. Vol.10, Iss.5. P.447–458. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00511-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00511-7)
2. Herb M., Gluschko A., Schramm M. Reactive Oxygen Species: Not Omnipresent but Important in Many Locations // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. Vol.9. Article number: 716406. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.716406>
3. Herb M., Schramm M. Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity // *Antioxidants (Basel)*. 2021. Vol.10, Iss.2. Article number: 313. <https://doi.org/10.3390/antiox10020313>
4. Mills E.L., Kelly B., Logan A., Costa A.S.H., Varma M., Bryant C.E., Turlomousis P., Däbritz J.H.M., Gottlieb E., Latorre I., Corr S.C., McManus G., Ryan D., Jacobs H.T., Szibor M., Xavier R.J., Braun T., Frezza C., Murphy M.P., O'Neill L.A. Succinate Dehydrogenase Supports Metabolic Repurposing of Mitochondria to Drive Inflammatory Macrophages // *Cell*. 2016. Vol.167, Iss.2. P.457–470.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.064>
5. Rogers L.K., Cismowski M.J. Oxidative stress in the lung – the essential paradox // *Curr. Opin. Toxicol.* 2018. Vol.7. P.37–43. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.09.001>
6. Liu X., Chen Z. The pathophysiological role of mitochondrial oxidative stress in lung diseases // *J. Transl. Med.* 2017. Vol.15, Iss.1. Article number: 207. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1306-5>
7. Bhandary B., Marahatta A., Kim H.R., Chae H.J. An involvement of oxidative stress in endoplasmic reticulum stress and its associated diseases // *Int. J. Mol. Sci.* 2012. Vol.14, Iss.1. P.434–456. <https://doi.org/10.3390/ijms14010434>
8. Afanas'ev I. New nucleophilic mechanisms of ros-dependent epigenetic modifications: comparison of aging and cancer // *Aging Dis.* 2014. Vol.5, Iss.1. P.52–62. <https://doi.org/10.14336/AD.2014.050052>
9. Richter K., Konzack A., Pihlajaniemi T., Heljasvaara R., Kietzmann T. Redox-fibrosis: impact of TGFβ1 on ROS generators, mediators and functional consequences // *Redox Biol.* 2015. Vol.6. P.344–352. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.015>
10. Shao M.X., Nadel J.A. Dual oxidase 1-dependent MUC5AC mucin expression in cultured human airway epithelial cells // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005. Vol.102, Iss.3. P.767–772. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408932102>
11. Barnes P.J. COPD 2020: new directions needed // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2020. Vol.319, Iss.5. P.L884–L886. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00473.2020>
12. Barnes P.J. Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Antioxidants (Basel)*. 2022. Vol.11, Iss.5. Article number: 965. <https://doi.org/10.3390/antiox11050965>
13. Al-Azzawi M.A., Alaa A., Ghoneim A.H.A., Abozaid M.M.N. The effect of cigarette smoking on the oxidant–antioxidant imbalance in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *The Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*. 2019. Vol.68, Iss.4. P.462–470. [https://doi.org/10.4103/ejcdt.ejcdt\\_184\\_18](https://doi.org/10.4103/ejcdt.ejcdt_184_18)
14. Zheng J.P., Wen F.Q., Bai C.X., Wan H.Y., Kang J., Chen P., Yao W.Z., Ma L.J., Xia Q.K., Gao Y., Zhong N.S.; PANTHEON study committee. High-dose N-acetylcysteine in the prevention of COPD exacerbations: rationale and design of the PANTHEON Study // *COPD*. 2013. Vol.10, Iss.2. P.164–171. <https://doi.org/10.3109/15412555.2012.732628>
15. Tse H.N., Raiteri L., Wong K.Y., Yee K.S., Ng L.Y., Wai K.Y., Loo C.K., Chan M.H. High-dose N-acetylcysteine in stable COPD: the 1-year, double-blind, randomized, placebo-controlled HIACE study // *Chest*. 2013. Vol.144, Iss.1. P.106–118. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2357>
16. Paudel K.R., Panth N., Manandhar B., Singh S.K., Gupta G., Wich P.R., Nammi S., MacLoughlin R., Adams J., Warkiani M.E., Chellappan D.K., Oliver B.G., Hansbro P.M., Dua K. Attenuation of Cigarette-Smoke-Induced Oxidative Stress, Senescence, and Inflammation by Berberine-Loaded Liquid Crystalline Nanoparticles: In Vitro Study in 16HBE and RAW264.7 Cells // *Antioxidants*. 2022. Vol.11, Iss.5. Article number: 873. <https://doi.org/10.3390/antiox11050873>

**REFERENCES**

1. Adeloye D., Song P., Zhu Y., Campbell H., Sheikh A., Rudan I.; NIHR RESPIRE Global Respiratory Health Unit. Global, regional, and national prevalence of, and risk factors for, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 2019: a systematic review and modelling analysis. *Lancet Respir. Med.* 2022; 10(5):447–458. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00511-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00511-7)

2. Herb M., Gluschko A., Schramm M. Reactive Oxygen Species: Not Omnipresent but Important in Many Locations. *Front. Cell Dev. Biol.* 2021; 9:716406. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.716406>
3. Herb M., Schramm M. Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity. *Antioxidants (Basel)* 2021; 10(2):313. <https://doi.org/10.3390/antiox10020313>
4. Mills E.L., Kelly B., Logan A., Costa A.S.H., Varma M., Bryant C.E., Tourlomousis P., Däbritz J.H.M., Gottlieb E., Latorre I., Corr S.C., McManus G., Ryan D., Jacobs H.T., Szibor M., Xavier R.J., Braun T., Frezza C., Murphy M.P., O'Neill L.A. Succinate Dehydrogenase Supports Metabolic Repurposing of Mitochondria to Drive Inflammatory Macrophages. *Cell* 2016; 167(2):457–470.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.064>
5. Rogers L.K., Cismowski M.J. Oxidative stress in the lung – the essential paradox. *Curr. Opin. Toxicol.* 2018; 7:37–43. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.09.001>
6. Liu X., Chen Z. The pathophysiological role of mitochondrial oxidative stress in lung diseases. *J. Transl. Med.* 2017; 15(1):207. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1306-5>
7. Bhandary B., Marahatta A., Kim H.R., Chae H.J. An involvement of oxidative stress in endoplasmic reticulum stress and its associated diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 14(1):434–456. <https://doi.org/10.3390/ijms14010434>
8. Afanas'ev I. New nucleophilic mechanisms of ros-dependent epigenetic modifications: comparison of aging and cancer. *Aging Dis.* 2014; 5(1):52–62. <https://doi.org/10.14336/AD.2014.050052>
9. Richter K., Konzack A., Pihlajaniemi T., Heljasvaara R., Kietzmann T. Redox-fibrosis: impact of TGFβ1 on ROS generators, mediators and functional consequences. *Redox Biol.* 2015; 6:344–352. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.08.015>
10. Shao M.X., Nadel J.A. Dual oxidase 1-dependent MUC5AC mucin expression in cultured human airway epithelial cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2005; 102(3):767–772. <https://doi.org/10.1073/pnas.0408932102>
11. Barnes P.J. COPD 2020: new directions needed. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2020; 319(5):L884–L886. doi: 10.1152/ajplung.00473.2020
12. Barnes P.J. Oxidative Stress in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Antioxidants (Basel)* 2022; 11(5):965. <https://doi.org/10.3390/antiox11050965>
13. Al-Azzawi M.A., Alaa A., Ghoneim A.H.A., Abozaid M.M.N. The effect of cigarette smoking on the oxidant–antioxidant imbalance in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Egypt. J. Chest Dis. Tuberc.* 2019. 68(4):462–470. [https://doi.org/10.4103/ejcdt.ejcdt\\_184\\_18](https://doi.org/10.4103/ejcdt.ejcdt_184_18)
14. Zheng J.P., Wen F.Q., Bai C.X., Wan H.Y., Kang J., Chen P., Yao W.Z., Ma L.J., Xia Q.K., Gao Y., Zhong N.S.; PANTHEON study committee. High-dose N-acetylcysteine in the prevention of COPD exacerbations: rationale and design of the PANTHEON Study. *COPD* 2013; 10(2):164–171. <https://doi.org/10.3109/15412555.2012.732628>
15. Tse H.N., Raiteri L., Wong K.Y., Yee K.S., Ng L.Y., Wai K.Y., Loo C.K., Chan M.H. High-dose N-acetylcysteine in stable COPD: the 1-year, double-blind, randomized, placebo-controlled HIACE study. *Chest* 2013; 144(1):106–118. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2357>
16. Paudel K.R., Panth N., Manandhar B., Singh S.K., Gupta G., Wich P.R., Nammi S., MacLoughlin R., Adams J., Warkiani M.E., Chellappan D.K., Oliver B.G., Hansbro P.M., Dua K. Attenuation of Cigarette-Smoke-Induced Oxidative Stress, Senescence, and Inflammation by Berberine-Loaded Liquid Crystalline Nanoparticles: In Vitro Study in 16HBE and RAW264.7 Cells. *Antioxidants* 2022; 11(5):873. <https://doi.org/10.3390/antiox11050873>

**Информация об авторах:**

**Олеся Олеговна Котова**, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: foxy\_voxy\_on@mail.ru

**Дина Анатольевна Гассан**, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dani-shi@mail.ru

**Ивана Юрьевна Сугайло**, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ivanka\_888@mail.ru

**Author information:**

**Olesya O. Kotova**, PhD (Med.), Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: foxy\_voxy\_on@mail.ru

**Dina A. Gassan**, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dani-shi@mail.ru

**Ivana Yu. Sugaylo**, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ivanka\_888@mail.ru

**Денис Евгеньевич Наумов**, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: denn1985@bk.ru

**Denis E. Naumov**, PhD (Med.), Head of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: denn1985@bk.ru

**Яна Геннадьевна Горчакова**, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

**Yana G. Gorchakova**, Research Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

**Елизавета Григорьевна Шелудко**, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: liza.sheludko@mail.ru

**Elizaveta G. Sheludko**, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: liza.sheludko@mail.ru

---

*Поступила 12.01.2023  
Принята к печати 06.02.2023*

*Received January 12, 2023  
Accepted February 06, 2023*

---