

УДК 577.21(616-053.2:616.21-031.12:612.225):616.9-06

DOI: 10.36604/1998-5029-2026-101-72-83

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ *TRPV2*, *TRPV4*, *TRPM8* И ИХ ЭКСПРЕССИЯ У ДЕТЕЙ С ПОСТИНФЕКЦИОННОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

А.С.Манукян, А.Г.Приходько

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Развитие постинфекционной гиперреактивности дыхательных путей у детей остается важной педиатрической и пульмонологической проблемой. При этом, несмотря на накопленные клинично-функциональные данные, молекулярно-генетические предикторы изучены недостаточно. **Цель.** Изучить распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов *TRPV2* (rs1129235, rs3813769, rs7217735), *TRPV4* (rs6606743) и *TRPM8* (rs11562975) у детей с различным характером постинфекционной реактивности дыхательных путей на гипоосмолярный стимул. **Материалы и методы.** Обследовано 105 детей на восстановительном этапе респираторных заболеваний в возрасте 10 [8; 12] лет. Средний рост детей составил $148,7 \pm 1,5$ см, масса тела – 40 [30; 53] кг, а индекс массы тела (ИМТ) – $17,4 [15,7; 20,4]$ кг/м². Реакцию дыхательных путей на гипоосмолярный стимул оценивали с помощью бронхопровокационной пробы с ультразвуковой ингаляцией дистиллированной водой (ИДВ). Генотипирование полиморфных локусов генов *TRPV2*, *TRPV4* и *TRPM8* осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в лейкоцитах периферической крови с последующим анализом кривых плавления высокого разрешения (HRM-анализ). Уровень экспрессии мРНК целевых генов в клетках назального эпителия определяли методом количественной ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени. **Результаты.** По результатам бронхопровокационной пробы с ИДВ пациенты были разделены на две группы: дети с измененной реактивностью дыхательных путей в ответ на ИДВ (1 группа, n = 59) и дети без реакции на стимул (2 группа, n = 40). У пациентов 1 группы была верифицирована дисфункция на всех уровнях бронхиального дерева, затронувшая весь спектр скоростных показателей выдоха. Молекулярно-генетический анализ выявил высокозначимый протективный эффект сверхдоминантной модели наследования синонимичного локуса rs6606743 гена *TRPV4*. Установлено, что гетерозиготный генотип AG был ассоциирован со снижением шансов развития гипоосмолярного бронхоспазма у детей в 4 раза (ОШ = 0,25; 95% ДИ 0,10–0,61; p = 0,002). По результатам линейного регрессионного анализа, выполненного по всей выборке детей, минорный аллель А однонуклеотидного полиморфизма rs6606743 гена *TRPV4* ассоциировался со статистически значимым уменьшением степени падения ОФВ₁ в ответ на ИДВ ($\beta = +3,66\%$; $R^2 = 0,075$; p = 0,0149). По локусам генов *TRPM8* и *TRPV2* статистически достоверных ассоциаций с риском патологии не обнаруживалось. **Заключение.** Полученные результаты подтверждают вклад генетических факторов в формирование постинфекционной реактивности дыхательных путей у детей. Гетерозиготный генотип AG локуса rs6606743 гена *TRPV4* служит самостоятельным протективным фактором, снижающим шансы развития гипоосмолярного бронхоспазма, а носительство минорного аллеля А ассоциировано со ступенчатым уменьшением выраженности бронхоконстрикции. Данный полиморфизм может рассматриваться как прогностический маркер течения постинфекционного периода респираторной патологии в педиатрической практике.

Ключевые слова: постинфекционная измененная реактивность, дыхательные пути, ингаляция дистиллированной водой, спирометрия, парадоксальная бронходилатация, ионные каналы, TRP, TRPV4, rs6606743, полиморфизм генов, экспрессия мРНК, дети.

Контактная информация

Айкуш Славиковна Манукян, аспирант, младший научный сотрудник, лаборатория механизмов вирус-ассоциированных патологий развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: doctor_manukyan@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Aykush S. Manukyan, Postgraduate Student, Junior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Virus-Associated Developmental Pathologies, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: doctor_manukyan@mail.ru

Для цитирования:

Манукян А.С., Приходько А.Г. Однонуклеотидные полиморфизмы генов *TRPV2*, *TRPV4*, *TRPM8* и их экспрессия у детей с постинфекционной гиперреактивностью дыхательных путей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2026. Вып.101. С.72–83. DOI: 10.36604/1998-5029-2026-101-72-83

For citation:

Manukyan A.S., Prikhodko A.G. Single nucleotide polymorphisms in *TRPV2*, *TRPV4*, and *TRPM8* genes and their expression in children with postinfectious airway hyperresponsiveness. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2026; (101):72–83 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2026-101-72-83

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN *TRPV2*, *TRPV4*, AND *TRPM8* GENES AND THEIR EXPRESSION IN CHILDREN WITH POSTINFECTIOUS AIRWAY HYPER-RESPONSIVENESS

A.S.Manukyan, A.G.Prikhodko

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

SUMMARY. Introduction. The development of postinfectious airway hyperresponsiveness in children remains a major challenge in pediatric pulmonology. Despite the accumulated clinical and functional data, molecular genetic predictors of this condition are still insufficiently studied. **Aim.** To investigate the frequency distribution of genotypes and alleles of the polymorphic loci of *TRPV2* (rs1129235, rs3813769, rs7217735), *TRPV4* (rs6606743), and *TRPM8* (rs11562975) genes in children with various patterns of post-infectious airway reactivity to a hypoosmolar stimulus. **Materials and methods.** A total of 105 children aged 10 [8, 12] years were examined during the recovery phase of respiratory diseases. The mean height of the children was 148.7 ± 1.5 cm, body weight was 40 [30, 53] kg, and body mass index (BMI) was $17.4 [15.7, 20.4]$ kg/m². Airway response to a hypoosmolar stimulus was assessed using a bronchial provocation test with ultrasonic inhalation of distilled water (IDW). Genotyping of the polymorphic loci in *TRPV2*, *TRPV4*, and *TRPM8* genes was performed by real-time polymerase chain reaction (qPCR) in peripheral blood leukocytes, followed by high-resolution melting (HRM) curve analysis. The mRNA expression levels of target genes in nasal epithelial cells were determined by quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR) in real-time. **Results.** Based on the results of the bronchial provocation test with IDW, the patients were divided into two groups: children with altered responsiveness to IDW (Group 1, n = 59) and children with no reaction to the stimulus (Group 2, n = 40). In Group 1 patients, airway dysfunction was verified at all levels of the bronchial tree, affecting the entire spectrum of expiratory flow parameters. Molecular genetic analysis revealed a highly significant protective effect of the overdominant inheritance model for the synonymous locus rs6606743 of the *TRPV4* gene. It was established that the heterozygous AG genotype was associated with a 4-fold reduction in the odds of developing hypoosmolar bronchospasm in children (OR = 0.25; 95% CI: 0.10–0.61; p = 0.002). According to the linear regression analysis performed on the entire cohort, the minor A allele of the rs6606743 SNP in the *TRPV4* gene was associated with a statistically significant decrease in the degree of FEV₁ decline in response to IDW (β = +3.66%, R² = 0.075, p = 0.0149). No statistically significant associations with the risk of pathology were found for the loci of the *TRPM8* and *TRPV2* genes. **Conclusion.** The data obtained confirm the contribution of genetic factors to the formation of post-infectious airway reactivity in children. The heterozygous AG genotype of the rs6606743 locus in the *TRPV4* gene serves as an independent protective factor that reduces the odds of developing hypoosmolar bronchospasm, whereas the carriage of the minor A allele is associated with a stepwise decrease in the severity of bronchoconstriction. This polymorphism can be considered a prognostic marker for assessing the course of the post-infectious period of respiratory pathology in pediatric practice.

Key words: post-infectious altered responsiveness, airways, distilled water inhalation, spirometry, paradoxical bronchodilation, ion channels, TRP, *TRPV4*, rs6606743, gene polymorphism, mRNA expression, children.

Развитие постинфекционной гиперреактивности дыхательных путей у детей остается одной из наиболее актуальных проблем современной педиатрии и пульмонологии [1–3]. Изменение чувствительности бронхиального дерева к неспецифическим стимулам, возникающее после перенесенных острых респираторных инфекций, существенно отягощает течение восстановительного периода и требует долгосрочного мониторинга функции дыхания [2, 3]. Клиническая значимость данного состояния обусловлена тем, что повреждение эпителиального барьера инфекционными агентами и последующее нарушение механизмов восстановления респираторного эпителия индуцируют формирование дисфункции бронхиального тонуса и манифестации гетерогенных, полярных вариантов функционального ответа бронхов на внешние физические и осмотические стимулы [2, 3]. Ранее в нашем исследовании были детально охарактеризованы клиничко-функциональные особенности течения пост-

инфекционной реактивности дыхательных путей у детей [3], а также показано, что ультразвуковая ингаляция дистиллированной водой (ИДВ) выступает в качестве гипоосмолярного триггера, позволяющего выявить скрытые нарушения бронхиальной проходимости в период реконвалесценции [3]. Однако, несмотря на детальное описание клиничко-функциональных особенностей данного состояния, молекулярно-генетические механизмы, определяющие индивидуальную предрасположенность или, напротив, устойчивость дыхательных путей к осмотическому стрессу у части детей, до сих пор остаются нераскрытыми.

В роли ключевых молекулярных сенсоров, реагирующих на изменение физико-химических параметров локальной микросреды респираторной системы (температуру, осмолярность, pH), выступают ионные каналы семейства TRP (Transient Receptor Potential) [4]. Данные термо- и осмочувствительные рецепторы (в

частности, TRPV2, TRPV4 и TRPM8) широко экспрессируются на клетках эпителия, гладкомышечных клетках бронхов и сенсорных нервных волокнах, принимая непосредственное участие в регуляции бронхиального тонуса и инициации нейрогенного воспаления [5–14]. Предполагается, что изменение функциональной активности или плотности экспрессии данных рецепторов, обусловленное наличием конкретных однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), может существенно модифицировать ответ дыхательных путей на гипоосмолярный стимул у детей.

Настоящее исследование является логическим продолжением нашей предыдущей работы [3] и направлено на раскрытие молекулярно-генетических предикторов формирования выявленных нами фенотипов. Цель данного исследования – изучить распределение частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов *TRPV2* (rs1129235, rs3813769, rs7217735), *TRPV4* (rs6606743) и *TRPM8* (rs11562975) у детей с различным характером постинфекционной реактивности дыхательных путей на гипоосмолярный стимул.

Материалы и методы исследования

Клиническую группу исследования составили 105

пациентов обоих полов в возрасте 7–17 лет в постинфекционном периоде острых респираторных заболеваний.

Критерии исключения: верифицированный диагноз бронхиальная астма, возраст младше 7 и старше 17 лет; неспособность ребенка корректно выполнить спирометрическое тестирование, острый период респираторных заболеваний; применение блокаторов лейкотриеновых рецепторов, комбинированных бронхолитиков или фиксированных комбинаций ингаляционных глюкокортикостероидов с β_2 -агонистами в течение предшествующих 6 месяцев.

Исследование выполнено в строгом соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki, 2013). Проведение работы одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД (протокол № 7 от 18 октября 2023 года). Родители и законные представители всех участников были детально ознакомлены с дизайном, графиком и процедурами планируемых обследований, после чего предоставили письменное информированное согласие на включение детей в исследование. Основные этапы, методы и цели работы структурированы в таблице 1.

Таблица 1

Этапы и дизайн исследования

Этап исследования	Выполняемые процедуры и методы	Цель этапа	Объект исследования / биоматериал
Этап I Клинико-функциональный	Отбор пациентов для проведения бронхопровокационного теста с ультразвуковой ингаляцией дистиллированной водой (ИДВ)	Формирование групп по реакции дыхательных путей на тест ИДВ	Дети в восстановительном периоде после респираторных заболеваний (n = 105)
Этап II Молекулярно-генетический	Сбор образцов периферической крови для ПЦР-генотипирования локусов генов <i>TRPV2</i> (rs1129235, rs3813769, rs7217735), <i>TRPV4</i> (rs6606743) и <i>TRPM8</i> (rs11562975)	Поиск полиморфных маркеров риска развития гипоосмолярного бронхоспазма	Лейкоциты периферической крови (успешно генотипированные образцы)
Этап III Транскрипционный	Сбор образцов назального эпителия для ОТ-ПЦР в реальном времени с оценкой экспрессии генов <i>TRPV2</i> , <i>TRPV4</i> и <i>TRPM8</i>	Оценка функциональной активности исследуемых каналов в верхних дыхательных путях	Клетки назального эпителия (образцы с высоким качеством выделенной РНК)

Реактивность дыхательных путей оценивали с помощью бронхопровокационного теста с ультразвуковой ИДВ [14]. В ходе исследования были проанализированы следующие спирометрические показатели и характер их изменений в ответ на проведение бронхопровокационной пробы с ИДВ: исходный объем форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_{1ИДВ}$, л), изменения $ОФВ_1$ после ингаляции изотонического раствора натрия хлорида ($\Delta ОФВ_{1ФР}$, %), изменение форсированной жизненной емкости легких ($\Delta ФЖЕЛ_{ИДВ}$, %) и $ОФВ_1$ после пробы с ИДВ

($\Delta ОФВ_{1ИДВ}$, %). Дополнительно оценивали изменение показателей: $ОФВ_1/ЖЕЛ$ ($\Delta ОФВ_1/ЖЕЛ_{ИДВ}$, %), а также изменение средней объемной скорости выдоха на уровне 25–75% ФЖЕЛ после пробы с ИДВ ($\Delta СОС_{25-75ИДВ}$, %).

Проводилось генотипирование панели полиморфных локусов генов *TRPV2*, *TRPV4* и *TRPM8*. Полная молекулярно-генетическая номенклатура и функциональные характеристики исследованных вариантов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Молекулярно-генетическая характеристика исследованных локусов

Ген	Локус	Тип варианта	Локализация	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена
<i>TRPV2</i>	rs1129235	Миссенс-мутация	Экзон 11	c.1521C>G	p.Phe507Leu (F507L)
<i>TRPV2</i>	rs3813769	Синонимичный вариант	Экзон 2	c.117T>C	p.Ile39Ile (I39I)
<i>TRPV2</i>	rs7217735	Регуляторный вариант	Инtron 10	c.1481+114A>G	Отсутствует (интронная)
<i>TRPV4</i>	rs6606743	Синонимичный вариант	Экзон 11	c.1413A>G	p.Gly471Gly (G471G)
<i>TRPM8</i>	rs11562975	Синонимичный вариант	Экзон 7	c.750G>C	p.Leu250Leu (L250L)

Взятие образцов периферической крови у всех обследованных детей осуществляли из локтевой вены в объеме 5 мл с использованием вакуумных систем, содержащих этилендиаминтетрауксусную кислоту в качестве антикоагулянта (Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd., Китай). Образцы замораживали при температуре -20 °C и хранили до момента дальнейшей обработки.

ДНК из лейкоцитов крови выделяли с помощью коммерческого набора «ДНК-Экстрен-1» (ЗАО «Синтол», Россия). Полученный генетический материал хранили при -20 °C для последующего использования в генотипировании ОНП.

Амплификацию проводили на аппарате CFX96 Touch (Bio-Rad, США) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с анализом плавления высокого разрешения (HRM) или асимметричной ПЦР с флуоресцентными зондами (LATE-PCR). Смесь ПЦР для HRM-анализа ОНП включала: ДНК-матрицу – 100 нг, 1x ПЦР-буфер с EvaGreen, MgCl₂ – 2,5 mM, dNTP – 0,25 mM, праймеры – по 0,2 мкМ прямого и обратного, Hot Start Taq-полимеразу, ингибированную антителами – 1 ЕД, воду – до 10 мкл («Синтол», Россия). Смесь для LATE-PCR состояла из тех же компонентов, но имела следующие особенности: лимитирующий праймер – 0,02 мкМ, избыточный праймер – 0,5 мкМ, зонд – 0,5 мкМ. Программа амплификации для HRM-анализа включала предварительную денатурацию (1 цикл при 96 °C в течение 1,5 минут) и 40 циклов, состоящих из денатурации при 96 °C в течение 5 секунд, отжиг/элонгация Ta °C (температура, специфическая для каждого ОНП) / 12 сек; 1 цикл – финальная элонгация 72 °C / 1 минута; скорость нагревания и охлаждения 3 °C / секунда; и режим плавления: 1 цикл – предварительная денатурация 96 °C / 1 минута; 1 цикл – предварительная гибридизация 70 °C / 1 минута; нагрев от 70 до 95 °C с шагом 0,2 °C каждые 5 секунд. LATE-ПЦР так же включала в себя два режима: амплификация: 1 цикл – предварительная денатурация 96 °C / 1,5 минуты; 25 циклов – денатурация 96 °C / 5 секунд, отжиг/элонгация Ta1 (температура отжига лимитирующего прай-

мера) °C / 15 секунд; 45 циклов – денатурация 96 °C / 5 секунд, отжиг/элонгация Ta2 (температура отжига избыточного праймера) °C / 15 секунд; 1 цикл – финальная элонгация 72 °C / 1 минута; скорость нагревания и охлаждения 3 °C в секунду; и режим плавления: 1 цикл – предварительная денатурация 96 °C / 1 минута; 1 цикл – предварительная гибридизация 30 °C / 1 минута; нагрев от 30 до 70 °C с шагом 1 °C каждые 5 секунд. Детекция генотипов была произведена путем анализа графиков, отражающих зависимость первой отрицательной производной интенсивности флуоресценции от температуры (-dF/dT). Для интерпретации результатов HRM-анализа использовали программное обеспечение Precision Melt Analysis (Bio-Rad, США) [15].

Полученные в результате исследования данные о частотах генотипов были проверены на соответствие популяционным данным в международной базе данных ОНП (dbSNP NCBI) [16], а также на предмет соответствия равновесию Харди-Вайнберга с использованием критерия χ^2 Пирсона.

Праймеры, использованные в реакциях амплификации, приведены в таблице 3.

В качестве биологического материала для анализа экспрессии целевых генов *TRPM8*, *TRPV2* и *TRPV4* на уровне мРНК использовали клетки назального эпителия, полученные с помощью браш-биопсии из нижней носовой раковины под риноскопическим контролем. Забор материала осуществлялся сразу после проведения бронхопровокационного теста с ИДВ. Образцы клеток смывали в буфер для лизиса LB (Биолабмикс, Россия) и замораживали при -80 °C до момента дальнейшей обработки. Экстракцию РНК из клеток выполняли с помощью коммерческих наборов на спин-колонках (Биолабмикс, Россия) согласно протоколу производителя. В ходе процедуры образцы обрабатывали ДНКазой (Magen, КНР) для удаления контаминирующей ДНК. Качество и количество полученной РНК оценивали с помощью флуориметра Qubit (Thermo Fisher Scientific, США). Обратную транскрипцию РНК выполняли с помощью набора, содержащего

обратную транскриптазу RNAscribeRT (Биолабмикс, Россия), в соответствии с инструкцией производителя. Полученную кДНК хранили при -20 °C для последующего проведения этапа амплификации.

Для анализа относительных уровней экспрессии исследуемых генов был выбран референсный ген *PPIA* (пептидилпролил изомераза А или циклофилин А), до-

статочно стабильно экспрессирующийся в клетках. Оценку экспрессии производили с помощью ПЦР в реальном времени на аппарате CFX96 (Bio-Rad, США) в присутствии интеркалирующего красителя EvaGreen (Синтол, Россия). Праймеры, использованные в реакции амплификации, приведены в таблице 4.

Таблица 3

Характеристика праймеров и зондов для генотипирования ОНП

ОНП	Олигонуклеотидные последовательности (праймеры и зонд)	Ta, °C
<i>TRPV2</i> rs3813769	FWD 5'-GATTCGCAGCAGGGTGTGT-3'	63
	REV 5'-CAGGTTCTGGTCTCTCGGTCA-3'	
<i>TRPV2</i> rs1129235	FWD 5'-CTGATGAAGGCTGTGCTGAACC-3'	64
	REV 5'-TGGGCATTTACCAGGGGCT-3'	
<i>TRPV2</i> rs7217735	FWD 5'-CTGGGGATACAGCAACAAAG-3'	58
	REV 5'-GAGGTGAGAAAGCAAGGATT-3'	
<i>TRPV4</i> rs6606743	FWD 5'-CGTGAGTGTGGTTTTTGGTCTA-3'	61
	REV 5'-ACAGCCTCTCTCCGAGTC-3'	
<i>TRPM8</i> rs7971845	FWD-X 5'-CCAGTACCTTATGGATGACTT-3'	Ta1 – 62; Ta2 – 58
	REV-L 5'-GGAGCTTTGCTTCGACAGTGGGAT-3'	
	MB 5'-FAM-CGGCCAGGATATACAGTGGAGCCG-BHQ1-3'	

Примечание: rsID – идентификационный номер в базе NCBI; FWD – forward, прямой праймер; REV – reverse, обратный праймер; MB – molecular beacon, зонд типа «молекулярный маяк»; L – лимитирующий праймер; X – избыточный праймер; 5'-FAM – флуоресцентный краситель Fluorescein Amidite; BHQ1-3' – «тушитель» флуоресценции с 3' конца Black Hole Quencher 1. Ta °C – температура отжига, специфическая для ОНП; Ta1 – температура отжига для первых 25 циклов при LATE-ПЦР; Ta2 – температура отжига для последующих 45 циклов при LATE-ПЦР.

Таблица 4

Олигонуклеотидные последовательности праймеров, использованных в ПЦР для исследования экспрессии генов, с указанием концентрации $MgCl_2$ в реакции и температуры отжига

Ген	Олигонуклеотидные последовательности	$MgCl_2$, mM	Ta, °C
<i>PPIA</i>	FWD 5'-TGCTTGTAGCATATAGAGCCTCTCC-3'	2,5	62
	REV 5'-GAAGGGGTTTTCTCAGCTTAGATTG-3'		
<i>TRPV2</i>	FWD 5'-GCTGGTGCTTCAGGGTGGAGGA-3'	2,5	68
	REV 5'-TTGGACTGGAGGAGCTGGACGG-3'		
<i>TRPV4</i>	FWD 5'-TGGTGCTTCAGGGTGGATGA-3'	1,5	62
	REV 5'-GAAGGCACTGCTGAAATGCG-3'		
<i>TRPM8</i>	FWD 5'-CATGGAGTCTTCTGTCTGCTGTTTC-3'	2,5	65
	FWD 5'-GTGTCGTTGGCTTTTGTGTTGAT-3'		

Реакционная смесь для ПЦР включала: 1x ПЦР-буфер, содержащий EvaGreen, $MgCl_2$ (концентрация указана в таблице 4); dNTP – 0,25 mM, прямой и обратный праймер – по 0,2 мкМ, Hot Start Taq-полимеразы, ингибированная антителами – 1 ЕД, кДНК-матрица –

2 мкл; вода – до 10 мкл. Амплификацию проводили в режиме: 1 цикл – предварительная денатурация – 96 °C / 1,5 минуты; 45 циклов – денатурация 96 °C / 5 секунд, отжиг Ta °C (температура указана в таблице 4) / 10 секунд, элонгация – 72 °C / 10 секунд; финальная элон-

гация – 72 °C / 1 минуту. Образцы амплифицировали в трехкратных повторях для каждого гена. Затем из трёх полученных значений пороговых циклов (Ct) вычисляли среднее арифметическое для каждого случая.

Основную статистическую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Анализ клинко-функциональных параметров выполняли с применением базовых методов вариационной статистики в программе «Автоматизированная система диспансеризации» (Россия) [17]. При подтверждении нормального (гауссова) распределения признаков использовали непарный t-критерий Стьюдента. Если распределение отличалось от нормального, сравнение групп проводили с помощью непарметрического критерия Манна-Уитни. Количественные данные с нормальным распределением представляли как $M \pm m$ (где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка среднего), а показатели с негауссовым типом распределения – в виде медианы с межквартильным размахом ($Me [Q1; Q3]$). Анализ ассоциаций генотипов и аллелей с риском развития патологии проводили с расчетом отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (95% ДИ). Оценку количественных взаимосвязей выполняли методом линейного регрессионного анализа с определением стандартизированного регрессионного коэффициента (β) и коэффициента детерминации (R^2). Для выявления корреляционных связей между исследуемыми параметрами применяли метод ранговой корреляции Спирмена.

Расчет относительного уровня экспрессии исследуемых генов выполняли с помощью специализированного программного обеспечения REST 2009 V2.0.13 (Qiagen GmbH, Германия) [18]. Математический алгоритм данной программы базируется на модели Пфаффа, предусматривающей автоматическую коррекцию результатов на реальную эффективность амплификации каждого локуса. С целью преодоления проблемы нелинейного распределения пороговых циклов (Ct) программное обеспечение полностью отказывается от стандартных параметрических тестов в пользу перестановочного рандомизационного критерия гипотез. Интеграция алгоритмов многократного случайного перераспределения данных и бутстрэппинга (не менее

2000 итераций) позволяет строить асимметричные доверительные интервалы, существенно повышая точность, надежность и статистическую достоверность межгрупповых сопоставлений кратных величин экспрессии мРНК [18].

Критический порог статистической значимости (p) при проведении всех расчетов принимали $\leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В исследовании приняли участие 105 детей на восстановительном этапе респираторных заболеваний, среди которых были 39 девочек и 66 мальчиков в возрасте 10 [8; 12] лет. Средний рост ребенка составил $148,66 \pm 1,5$ см, масса тела – 40 [30; 53] кг, а индекс массы тела (ИМТ) – $17,4 [15,7; 20,4]$ кг/м².

Был выполнен бронхопровокационный тест с ультразвуковой ингаляцией дистиллированной водой. Проведение пробы с ИДВ оказалось невозможным у 6 пациентов в связи с возникновением интенсивного кашля при выполнении форсированных дыхательных маневров, что послужило основанием для их исключения из последующего анализа. С учетом характера ответа на гипоосмолярный стимул итоговая когорта из 99 детей была разделена на две группы. Первую группу составили 59 детей (60%) с изменённой реактивностью дыхательных путей на гипоосмолярный стимул. Среди них у 10 детей (17%) была выраженная реакция на изотонический раствор со значимым уменьшением ΔO_{FV_1} в среднем по группе на $-16,1 \pm 2,14\%$. Истинная осмотическая гиперреактивность непосредственно на ингаляцию ИДВ была зарегистрирована у 20 детей (34%), продемонстрировавших среднее снижение ΔO_{FV_1} на $13,0 \pm 1,57\%$. Еще у 29 обследованных детей (49%) был выявлен феномен парадоксального улучшения бронхиальной проходимости в ответ на гипоосмолярный стимул, сопровождавшийся выраженным приростом ΔO_{FV_1} на $11,5 \pm 1,91\%$. Вторую группу составили 40 детей (40%), не отреагировавших на ИДВ, у которых спирометрические сдвиги после пробы с ИДВ оставались в пределах физиологической нормы, ΔO_{FV_1} в среднем по группе составил $-2,78 \pm 0,52\%$. Анализ спирометрических показателей в ответ на гипоосмолярный стимул между группами обследованных представлен в таблице 5.

Таблица 5

Изменение спирометрических показателей при проведении бронхопровокационной пробы с ИДВ у детей

Показатели	1 группа (n = 59)	2 группа (n = 40)	Значимость различий
$\Delta O_{FV_1 \text{ ИДВ}}, \%$	1,7 [-9,7; 9,6]	-2,7 [-5,0; -1,2]	$p < 0,001$
$\Delta O_{FV_1} / \text{ЖЕЛ}_{\text{ИДВ}}, \%$	0,6 [-7,2; 6,0]	-2,0 [-4,8; -0,1]	$p = 0,004$
$\Delta \text{СОС}_{25-75 \text{ ИДВ}}, \%$	3,3 [-25,9; 23,0]	-5,6 [-12,0; -1,0]	$p = 0,003$

Обе группы детей получили одинаковую дозу триггера (осмотическую нагрузку). Объем ингалированной дистиллированной воды в 1 группе составил 1,02 [0,08;

1,3] г, во 2 группе – 1,13 [0,08; 1,3] г ($p = 0,448$). После проведения бронхопровокации с ИДВ у детей 1 группы выявлена выраженная гетерогенность с формирова-

нием полярных индивидуальных ответов от клинически значимого бронхоспазма до парадоксальной дилатации бронхов, с медианой $\Delta\text{ОФВ}_{\text{ИДВ}}$ 1,67% [-9,73; 9,55]%. Во 2 группе регистрировались изменения в пределах физиологической нормы с медианой $\Delta\text{ОФВ}_{\text{ИДВ}}$ -2,7% [-5,04; -1,20]%. Более того, у пациентов 1 группы была верифицирована дисфункция на всех уровнях бронхиального дерева, затронувшая весь спектр скоростных показателей выдоха. В то же время у детей 2 группы реакция бронхов как на уровне крупных, так и на уровне мелких бронхов носила монотонный характер и проявлялась умеренным физиологическим снижением скоростных параметров (табл. 5). Следует отметить, что на введение салбутамола после бронхопровокации у детей 1 группы прирост ОФВ_1 составил 11,7% [1,5; 21,0]%, тогда как во 2 группе данный показатель достигал 6,0% [2,1; 8,7]% ($p = 0,221$).

Нами был проведен анализ ОНП генов *TRPV2*, *TRPV4* и *TRPM8* в лейкоцитах периферической крови. При изучении распределения частот генотипов полиморфного локуса rs1129235 гена *TRPV2* среди успешно генотипированных пациентов статистически значимых различий между группами не было обнаружено. В группе детей с измененной реактивностью бронхов на пробу с ИДВ (1 группа) частота гомозиготного генотипа АА составила 28,8% ($n = 17$), гетерозиготного генотипа АС – 30,5% ($n = 18$), а гомозиготного генотипа СС – 25,4% ($n = 15$). В группе детей, не реагирующих на пробу ИДВ (2 группа), распределение генотипов составило 30% ($n = 12$), 42,5% ($n = 17$) и 22,5% ($n = 9$) соответственно. Сопоставление доминантной (ОШ = 0,72; 95% ДИ: 0,28–1,89; $p = 0,631$), рецессивной (ОШ = 1,38; 95% ДИ: 0,52–3,66; $p = 0,618$), аллельной (ОШ = 1,07; 95% ДИ: 0,62–1,87; $p = 0,814$) и сверхдоминантной (ОШ = 0,69; 95% ДИ: 0,27–1,77; $p = 0,518$) моделей наследования показало отсутствие статистически достоверных различий между группами.

Изучение полиморфного локуса rs3813769 гена *TRPV2* также показало отсутствие статистически значимых различий между анализируемыми группами детей. В 1 группе частота генотипа ТТ составила 45,7% ($n = 27$), гетерозиготного генотипа СТ – 38,9% ($n = 23$), редкого гомозиготного генотипа СС – 8,47% ($n = 5$). Во 2-й группе данные генотипы регистрировались с частотой 62,5% ($n = 25$), 22,5% ($n = 9$) и 12,5% ($n = 5$) соответственно. Сравнение доминантной (ОШ = 1,85; 95% ДИ: 0,80–4,29; $p = 0,207$), рецессивной (ОШ = 0,68; 95% ДИ: 0,18–2,60; $p = 0,736$), аллельной (ОШ = 1,07; 95% ДИ: 0,62–1,87; $p = 0,814$) и сверхдоминантной (ОШ = 2,39; 95% ДИ: 0,87–6,75; $p = 0,105$) моделей наследования показало отсутствие статистически достоверных различий между группами. Стоит отметить, что при анализе распределения генотипов отмечалось численное преобладание гетерозигот СТ в группе детей с измененной реактивностью бронхов на пробу с ИДВ

по сравнению со 2 группой (41,8% против 23,1% соответственно; $\chi^2 = 2,225$; $p > 0,05$). Выявленное распределение частот позволяет предположить наличие клинко-генетической тенденции в рамках сверхдоминантной модели наследования, однако, принимая во внимание текущий объем исследуемой выборки, указанные различия не достигли порогового уровня статистической достоверности. Методом линейной регрессии во всей когорте детей была выявлена статистическая тенденция к взаимосвязи полиморфного локуса rs3813769 с массой тела обследованных детей ($R^2 = 0,0347$; $p = 0,0721$). Носительство минорного аллеля С было ассоциировано с увеличением веса пациентов ($\beta = +4,42$ кг). Также выявлялась пограничная взаимосвязь локуса rs3813769 с возрастом обследованных детей ($R^2 = 0,0310$; $p = 0,0897$), присутствие каждого дополнительного минорного аллеля С в генотипе ассоциировалось со слабым увеличением возраста пациентов ($\beta = +0,67$ года).

При распределении частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs7217735 гена *TRPV2* в 1 группе среди успешно генотипированных детей частота гомозиготного генотипа АА составила 55,9% ($n = 33$), гетерозиготного генотипа АГ – 30,5% ($n = 18$), редкого гомозиготного генотипа GG – 10,2% ($n = 6$). Во 2 группе частоты генотипов распределились на 62,5% ($n = 25$), 30% ($n = 12$) и 2,6% ($n = 1$) соответственно. Сопоставление доминантной (ОШ = 1,40; 95% ДИ: 0,60–3,28; $p = 0,522$), рецессивной (ОШ = 4,35; 95% ДИ: 0,50–37,70; $p = 0,237$), аллельной (ОШ = 1,07; 95% ДИ: 0,62–1,87; $p = 0,814$) и сверхдоминантной (ОШ = 1,00; 95% ДИ: 0,38–2,58; $p = 1,000$) моделей наследования выявило отсутствие статистически достоверных различий между группами.

При анализе распределения частот генотипов локуса rs6606743 гена *TRPV4* среди успешно генотипированных детей в 1 группе частота гомозигот АА составила 32,2% ($n = 19$), гетерозигот АГ – 23,7% ($n = 14$), гомозигот GG – 35,6% ($n = 21$). Во 2 группе генотипы распределились на 20% ($n = 8$), 55% ($n = 22$) и 20% ($n = 8$) соответственно (рис. 1). Сравнение доминантной (ОШ = 2,28; 95% ДИ: 0,87–6,00; $p = 0,090$), рецессивной (ОШ = 2,04; 95% ДИ: 0,78–5,31; $p = 0,144$) и аллельной (ОШ = 1,07; 95% ДИ: 0,62–1,87; $p = 0,814$) моделей наследования продемонстрировало отсутствие статистически достоверной ассоциации исследуемого локуса с риском формирования осмотической гиперреактивности дыхательных путей у детей ($p > 0,05$). Однако в рамках сверхдоминантной модели наследования была обнаружена высокозначимая протективная роль гетерозиготного состояния. Установлено, что генотип АГ был ассоциирован со значимым снижением шансов развития гипосмолярной гиперреактивности в 4 раза (ОШ = 0,25; 95% ДИ: 0,10–0,61; $p = 0,002$ по точному критерию Фишера).

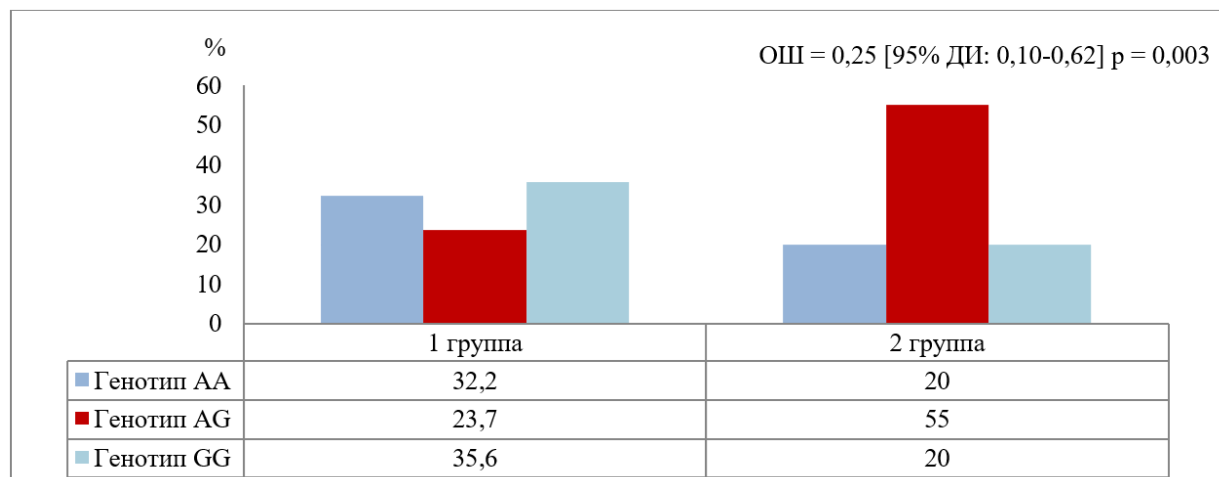


Рис. 1. Распределение частот генотипов локуса rs6606743 гена *TRPV4* в исследуемых группах с различной реактивностью на гипоосмолярный стимул в рамках сверхдоминантной модели наследования.

По результатам линейного регрессионного анализа, выполненного по всей выборке, носительство минорного аллеля А ОНП rs6606743 гена *TRPV4* ассоциировалось со статистически значимым, ступенчатым уменьшением степени падения ОФВ₁ в ответ на ИДВ ($\beta = +3,66\%$; $R^2 = 0,075$; $p = 0,0149$), что свидетельствовало о снижении выраженности бронхоспазма.

При анализе локуса rs11562975 гена *TRPM8* среди успешно генотипированных пациентов статистически значимых различий между группами обнаружено не было. В группе детей с измененной реактивностью бронхов на пробу с ИДВ (1 группа) частота гомозиготного генотипа GG составила 78,57% ($n = 44$), гетерозиготного генотипа GC – 21,43% ($n = 12$), а гомозиготный генотип CC отсутствовал. В группе детей, не реагирующих на гипоосмолярный стимул (2 группа), частоты генотипов GG, GC и CC распределились на 79,49% ($n = 31$), 17,95% ($n = 7$) и 2,56% ($n = 1$) соответственно. Сравнение доминантной (ОШ = 1,48;

95% ДИ: 0,52–4,27; $p = 0,592$), рецессивной (ОШ = 0,22; 95% ДИ: 0,01–5,67; $p = 0,411$), аллельной (ОШ = 1,07; 95% ДИ: 0,62–1,87; $p = 0,814$) и сверхдоминантной (ОШ = 1,06; 95% ДИ: 0,39–2,89; $p = 1,000$) моделей наследования выявило отсутствие статистически достоверных различий между группами ($p > 0,05$).

Был проведен анализ уровней экспрессии генов *TRPV2*, *TRPV4* и *TRPM8* в клетках назального эпителия (рис. 2). При анализе относительной экспрессии целевых генов в 1 группе отмечалась умеренная тенденция к увеличению экспрессии всех трех исследованных генов относительно 2 группы. Так, в случае *TRPV2* уровень экспрессии был в 1,364 раза (95% ДИ: 0,006–467,882; $p = 0,459$), *TRPV4* – в 1,894 раза (95% ДИ: 0,001–4176,541; $p = 0,504$), а *TRPM8* – в 1,551 раз (95% ДИ: 0,003–572,051; $p = 0,526$) выше контрольных значений. Тем не менее, ни для одного из исследованных генов выявленные изменения не достигли критериев статистической значимости ($p > 0,05$).

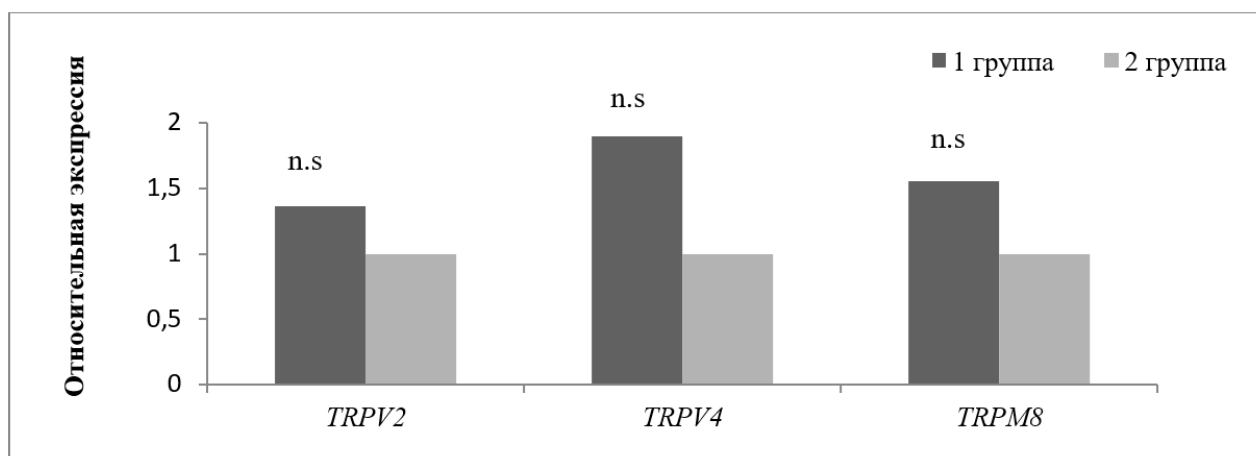


Рис. 2. Уровни относительной экспрессии генов *TRPV2*, *TRPV4* и *TRPM8* в клетках назального эпителия у детей с измененной реактивностью на ИДВ и детей, не реагирующих на ИДВ (n.s (not significant), различия были статистически не значимы).

Экстремально широкие границы 95% доверительного интервала, полученные методом бутстрэппинга, во всех точках свободно пересекали единицу. Это указывало на критически высокую межиндивидуальную вариабельность (так называемый транскрипционный шум) транскрипционной активности данных рецепторов в обследованных выборках детей. Таким образом, регистрируемый сдвиг средних показателей относительной экспрессии *TRPV2*, *TRPV4* и *TRPM8* носил случайный характер, что не позволяет сделать вывод о наличии направленного биологического ответа со стороны исследованных осмо- и терморецепторов назального эпителия в зависимости от типа реактивности детей на гипоосмолярный ингаляционный стимул.

Методом ранговой корреляции Спирмена в 1 группе выявлялась значимая обратная связь между степенью редукции ОФВ_1 в ответ на ингаляцию изотонического раствора и уровнем экспрессии *TRPV2* ($\rho = -0,20$; $p = 0,050$). Данный результат может указывать на участие катионных каналов *TRPV2* в механизмах формирования бронхоконстрикции, развивающейся в ответ на механическое раздражение дыхательных путей ингаляционным аэрозолем.

Скорее всего, развитие бронхоконстрикции при ингаляции изотонического раствора (0,9% NaCl), было обусловлено физическим воздействием высокодисперсного аэрозоля на поврежденный респираторный эпителий с дальнейшей активацией механорецепторов Piezo и катионных каналов TRP [14, 19–21]. В пользу данного предположения могла свидетельствовать обнаруженная нами корреляционная взаимосвязь. Последующий аксон-рефлекторный выброс нейропептидов, таких как субстанция P и нейрокинин A, из окончаний чувствительных C-волокон блуждающего нерва запускает Gq-опосредованный фосфолипазный каскад с молекулярной мобилизацией внутриклеточного Ca^{2+} из саркоплазматического ретикула посредством инозитолтрифосфата, что индуцирует спазм гладкой мускулатуры и отек подслизистого слоя [14, 22, 23]. Напротив, регистрируемое у части пациентов парадоксальное улучшение проходимости дыхательных путей в ответ на гипоосмолярный стимул могло говорить об активации альтернативного эпителиального протективного каскада [24]. Возникающий при ингаляции дистиллированной водой гипоосмолярный стресс и сопутствующее набухание эпителиоцитов активируют осмосенсорные каналы *TRPV4* [24]. Локальный вход Ca^{2+} через поры *TRPV4* селективно стимулирует конститутивную синтазу оксида азота (eNOS), приводя к массивному выбросу NO [24]. Диффузия NO сквозь мембраны гладкомышечных клеток активирует растворимую гуанилатциклазу (sGC), что вызывает резкое возрастание уровня циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). В свою очередь, цГМФ включает протеинкиназу G (PKG), которая открывает K^+ каналы высокой проводимости (BK_{Ca}), вызывая гиперполяризацию мембраны мышцы, глубокое падение уровня

внутриклеточного Ca^{2+} и, как следствие, возникает релаксация гладких мышц бронхов [24, 25]. Данный защитный бронходилатирующий каскад потенцируется синергичным *TRPV4*-зависимым синтезом простагландина E_2 , при котором активация *TRPV4* параллельно запускает сигнальный путь фосфолипазы A_2 и циклооксигеназы, стимулируя активный выброс простагландина. Связываясь со своими специфическими рецепторами EP_2 и EP_4 на гладких мышцах бронхиального дерева, простагландин E_2 активирует фермент аденилатциклазу и систему циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), что обеспечивает дополнительное эффективное расслабление гладкой мускулатуры дыхательных путей [25, 26].

Как известно, ионный канал *TRPV4* функционирует в плазматической мембране клеток респираторного эпителия, эндотелия сосудов и гладкой мускулатуры бронхов в виде тетрамерного комплекса [5–10]. Обнаруженное нами преимущество гетерозиготного состояния локуса rs6606743 *TRPV4* находит свое объяснение в гипотезе гетеротетрамеризации субъединиц [27]. У гомозиготных носителей формируются симметричные гомотетрамеры с максимальной чувствительностью к биомеханическим стимулам [27]. Под воздействием триггера растяжение клеточной мембраны открывает воротный механизм гомотетрамеров *TRPV4*, запуская избыточный, лавинообразный приток ионов кальция в цитозоль [27]. Рост концентрации Ca^{2+} активирует сигнальный путь кальмодулина (CaM) / киназы легкой цепи миозина (MLCK), индуцируя резкое сокращение клеток, разрушение межклеточных соединений, что в конечном итоге приводит к увеличению проницаемости эндотелия [27]. Напротив, у гетерозиготных носителей формируются асимметричные гибридные гетеротетрамеры. Наличие структурно различающихся субъединиц в едином мозаичном канале нарушает стехиометрию воротного механизма, снижая его механочувствительность [27]. В ответ на стимул поры таких гибридных каналов открываются лишь частично, обеспечивая ограниченный, контролируемый приток Ca^{2+} , уровень которого не достигает критического порога активации каскада CaM/MLCK, что сохраняет стабильность цитоскелета и целостность респираторного барьера [27]. Мы предполагаем, что данный молекулярно-генетический феномен представляет собой естественный протективный механизм, обеспечивающий сохранность барьерной функции эпителия и тонуса гладкой мускулатуры дыхательных путей у детей при воздействии гипоосмолярного стимула.

Молекулярно-генетическим базисом выявленной устойчивости к осмотическому триггеру служит сверхдоминантная модель наследования синонимичного полиморфизма rs6606743 гена *TRPV4*. Гетерозиготный генотип AG выступает в качестве сильного самостоятельного протективного фактора, снижающего шансы развития гипоосмолярного бронхоспазма в 4 раза. Это

позволяет рассматривать данный локус как прогностический маркер для оценки характера течения постинфекционного периода респираторных заболеваний у детей.

Результаты проведенного исследования демонстрируют, что постинфекционная измененная реактивность дыхательных путей у детей представляет собой не просто изолированную «склонность к спазму», а системное нарушение регуляции бронхиального тонуса, обуславливающее гетерогенность индивидуальных ответов на осмотический стресс. Хаотичное и разнонаправленное изменение параметров форсированного выдоха у пациентов 1 группы свидетельствует о выраженной регуляторной дисфункции дыхательных путей на фоне перенесенного инфекционного процесса. Напротив, умеренное снижение скоростных показателей у детей 2 группы отражает сохранность нормальных защитных рефлекторных механизмов бронхиального дерева в ответ на гипоосмолярный стимул.

Заключение

Полученные данные указывают на возможное участие исследованных генетических механизмов в характере формирования постинфекционной реактивности дыхательных путей у детей. Гетерозиготный генотип AG локуса rs6606743 гена *TRPV4* выступает в качестве самостоятельного протективного фактора, снижающего шансы развития гипоосмолярного бронхоспазма. Носительство минорного аллеля А ассоциировано со

ступенчатым уменьшением выраженности бронхоконстрикции. Это позволяет рассматривать данный полиморфизм в роли молекулярно-генетического маркера для оценки течения постинфекционного периода респираторных заболеваний у детей.

Конфликт интересов

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

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках государственного задания (№ 124101100335-3)

Funding Sources

The study was carried out under the State Assignment (No. 124101100335-3)

Благодарности

Авторы выражают благодарность кандидату медицинских наук Денису Евгеньевичу Наумову за консультирование при подготовке рукописи, а также кандидату медицинских наук Олеся Олеговне Некрасовой за помощь в проведении молекулярно-генетических исследований

Acknowledgements

The authors are grateful to Denis E. Naumov, MD, PhD, for valuable advice during the preparation of the manuscript, and to Olesya O. Nekrasova, MD, PhD, for assistance with molecular genetic studies

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhu L., Mei C., Zhang C., Li J., Tian D. Pathogenesis and risk factors of post-infectious bronchiolitis obliterans in children: a focus on adenovirus and mycoplasma infections // Pathogens. 2026. Vol.15, №5. Article number:533. <https://doi.org/10.3390/pathogens15050533>
2. Qin Q., Wang Q., Wang S., Wang L., Sun J., Li G. Longitudinal study of subsequent wheezing/asthma risk among children hospitalized for acute respiratory infections – Yichang City, Hubei province, China, 2017-2024 // China CDC Weekly. 2026. Vol.8, №21. P.641–646. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2026.104>
3. Манукян А.С., Приходько А.Г. Клинико-функциональные особенности течения постинфекционной реактивности дыхательных путей у детей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2025. Вып.97. С.69–81. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2025-97-69-81>
4. Wu L.J., Sweet T.B., Clapham D.E. International union of basic and clinical pharmacology. LXXVI. Current progress in the mammalian TRP ion channel family // Pharmacol. Rev. 2010. Vol.62. P.381–404. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002725>
5. Jia Y., Wang X., Varty L.A., Rizzo Ch.A., Yang R., Correll C.C., Phelps P.T., Egan R.W., Hey J.A. Functional TRPV4 channels are expressed in human airway smooth muscle cells // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2004. Vol.287, №2. P.L272–L278. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00393.2003>
6. Alvarez D.F., King J.A., Weber D., Addison E., Liedtke W., Townsley M.I. Transient receptor potential vanilloid 4-mediated disruption of the alveolar septal barrier: a novel mechanism of acute lung injury // Circ. Res. 2006. Vol.99, №9. P.988–995. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000247065.11756.19>
7. Dietrich A., Chubanova V., Kalwa H., Rost B.R., Gudermann T. Cation channels of the transient receptor potential superfamily: their role in physiological and pathophysiological processes of smooth muscle cells // Pharmacol. Ther. 2006. Vol.112, №3. P.744–760. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.05.013>
8. Yang X.R., Lin M.J., McIntosh L.S., Sham J.S. Functional expression of transient receptor potential melastatin- and vanilloid-related channels in pulmonary arterial and aortic smooth muscle // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2006. Vol.290. P.L1267–L1276. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00515.2005>
9. Fernández-Fernández J.M., Andrade Y.N., Arniges M., Fernandes J., Plata C., Rubio-Moscardo F., Vazquez E., Valverde M.A. Functional coupling of TRPV4 cationic channel and large conductance, calcium-dependent potassium channel in human bronchial epithelial cell lines // Pflugers Arch. 2008. Vol.457. P.149–159. <https://doi.org/10.1007/s00424-008-0516-3>
10. Willette R.N., Bao W., Nerurkar S., Yue T.L., Doe C.P., Stankus G., Turner G.H., Ju H., Thomas H., Fishman C.E., Sulpizio A., Behm D.J., Hoffman S., Lin Z., Lozinskaya I., Casillas L.N., Lin M., Trout R.E.L., Votta B.J., Thorneloe K., Lashinger T.S.R., Figueroa D.J., Marquis R., Xu X. Systemic activation of the transient receptor potential vanilloid subtype 4 channel causes endothelial failure

- and circulatory collapse: part 2 // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2008. Vol.326. P443–452. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.134551>
11. Dunne O.M., Martin S.L., Sergeant G.P., McAuley D.F., O’Kane C.M., Button B., McGarvey L.P., Lundy F.T. TRPV2 modulates mechanically induced ATP release from human bronchial epithelial cells // Respir. Res. 2024. Vol.25, №1. Article number:188. <https://doi.org/10.1186/s12931-024-02807-0>
12. Grace M.S., Baxter M., Dubuis E., Birrell M.A., Belvisi M.G. Transient receptor potential (TRP) channels in the airway: role in airway disease // Br. J. Pharmacol. 2014. Vol.171, №10, P.2593–2607. <https://doi.org/10.1111/bph.12538>
13. Sabnis S.A., Shadid M., Yost G.S., Reilly Ch.A. Human Lung Epithelial Cells Express a Functional Cold-Sensing TRPM8 Variant // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2008. Vol.39, №4. P.466–474. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2007-0440OC>
14. Перельман Ю.М., Наумов Д.Е., Приходько А.Г., Колосов В.П. Механизмы и проявления осмотической гиперреактивности дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2016. 240 с. ISBN: 978-5-8044-1627-1.
15. Precision Melt Analysis™ Software. User Guide. Hercules, CA: Bio-Rad Laboratories, Inc., 2009. 87 p. (Bio-Rad Bulletin № 10014811).
16. Database of single nucleotide polymorphisms (dbSNP). Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/> (дата обращения: 12.06.2026).
17. Ульянычев Н.В. Системность научных исследований в медицине. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014. 140 с.
18. Pfaffl M.W., Horgan G.W., Dempfle L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR // Nucleic Acids Res. 2002. Vol.30, №9. Article number:e36. <https://doi.org/10.1093/nar/30.9.e36>
19. Hurrell B., Shen S., Li X., Sakano Y., Kazemi M.H., Quach C., Shafiei-Jahani P., Sakano K., Ghiasi H., Akbari O. Piezo1 channels restrain ILC2s and regulate the development of airway hyperreactivity // J. Exp. Med. 2024. Vol.221, №5. Article number:e20231835. <https://doi.org/10.1084/jem.20231835>
20. Zheng M., Borkar N.A., Yao Y., Ye X., Vogel E.R., Pabelick C.M., Prakash Y.S. Mechanosensitive channels in lung disease // Front. Physiol. 2023. Vol.14. Article number:1302631. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1302631>
21. Xiong H., Yang J., Guo J., Ma A., Wang B., Kang Y. Mechanosensitive Piezo channels mediate the physiological and pathophysiological changes in the respiratory system // Respir. Res. 2022. Vol.23, №1. Article number:196. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02122-6>
22. Omini C., Brunelli G., Hernandez A., Daffonchio L. Bradykinin and substance P potentiate acetylcholine-induced bronchospasm in guinea-pig // Eur. J. Pharmacol. 1989. Vol.163, №1. P.195–197. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(89\)90419-6](https://doi.org/10.1016/0014-2999(89)90419-6)
23. Solway J., Leff A.R. Sensory neuropeptides and airway function // J. Appl. Physiol. (1985). 1991. Vol.71, №6. P.2077–2087. <https://doi.org/10.1152/jappl.1991.71.6.2077>
24. Bajoriūnas V., Tunaitytė A., Volkevičiūtė A., Abramavičius S., Bajoriūnienė I., Stankevičius E., Simonsen U. Involvement of nitric oxide in TRPV4-induced relaxations of mouse and human pulmonary arteries // Biology (Basel). 2026. Vol.15, №3. Article number:292. <https://doi.org/10.3390/biology15030292>
25. Francis S.H., Busch J.L., Corbin J.D. cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action // Pharmacol. Rev. 2010. Vol.62, №3. P.525–563. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002907>
26. Alpizar Y.A., Boonen B., Sanchez A., Jung C., López-Requena A., Naert R., Steelant B., Luyts K., Plata C., De Vooght V., Vanoirbeek J.A.J., Meseguer V.M., Voets T., Alvarez J.L., Hellings P.W., Hoet P.H.M., Nemery B., Valverde M.A., Talavera K. TRPV4 activation triggers protective responses to bacterial lipopolysaccharides in airway epithelial cells // Nat. Commun. 2017. Vol 8, №1. Article number:1059. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01201-3>
27. Zergane M., Kuebler W.M., Michalick L. Heteromeric TRP channels in lung inflammation // Cells. 2021. Vol.10, №7. Article number:1654. <https://doi.org/10.3390/cells10071654>

REFERENCES

1. Zhu L., Mei C., Zhang C., Li J., Tian D. Pathogenesis and risk factors of post-infectious bronchiolitis obliterans in children: a focus on adenovirus and mycoplasma infections. *Pathogens* 2026; 15(5):533. <https://doi.org/10.3390/pathogens15050533>
2. Qin Q., Wang Q., Wang S., Wang L., Sun J., Li G. Longitudinal study of subsequent wheezing/asthma risk among children hospitalized for acute respiratory infections – Yichang city, Hubei province, China, 2017-2024. *China CDC Weekly* 2026; 8(21):641–646. <https://doi.org/10.46234/ccdcw2026.104>
3. Manukyan A.S., Prihodko A.G. [Clinical and functional features of postinfectious airway reactivity formation in children]. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2025; 97:69–81 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2025-97-69-81>
4. Wu L.J., Sweet T.B., Clapham D.E. International union of basic and clinical pharmacology. LXXVI. Current progress in the mammalian TRP ion channel family. *Pharmacol. Rev.* 2010; 62(3):381–404. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002725>
5. Jia Y., Wang X., Varty L.A., Rizzo C.A., Yang R., Correll C.C., Phelps P.T., Egan R.W., Hey J.A. Functional TRPV4 channels are expressed in human airway smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2004; 287(2):L272–L278. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00393.2003>
6. Alvarez D.F., King J.A., Weber D., Addison E., Liedtke W., Townsley M.I. Transient receptor potential vanilloid 4-mediated disruption of the alveolar septal barrier: a novel mechanism of acute lung injury. *Circ. Res.* 2006; 99(9):988–995. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000247065.11756.19>
7. Dietrich A., Chubakov V., Kalwa H., Rost B.R., Gudermann T. Cation channels of the transient receptor potential superfamily: their role in physiological and pathophysiological processes of smooth muscle cells. *Pharmacol. Ther.* 2006; 112(3):744–760. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.05.013>
8. Yang X.R., Lin M.J., McIntosh L.S., Sham J.S. Functional expression of transient receptor potential melastatin- and vanilloid-related channels in pulmonary arterial and aortic smooth muscle. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2006; 290(6):L1267–L1276.

<https://doi.org/10.1152/ajplung.00515.2005>

9. Fernández-Fernández J.M., Andrade Y.N., Arniges M., Fernandes J., Plata C., Rubio-Moscardo F., Vazquez E., Valverde M.A. Functional coupling of TRPV4 cationic channel and large conductance, calcium-dependent potassium channel in human bronchial epithelial cell lines. *Pflugers Arch.* 2008; 457(1):149–159. <https://doi.org/10.1007/s00424-008-0516-3>
10. Willette R.N., Bao W., Nerurkar S., Yue T.L., Doe C.P., Stankus G.H., Turner G.H., Ju H., Thomas H., Fishman C.E., Sulpizio A., Behm D.J., Hoffman S., Lin Z., Lozinskaya I., Casillas L.N., Lin M., Trout R.E.L., Votta B.J., Thorneloe K., Lashinger T.S.R., Figueroa D.J., Marquis R., Xu X. Systemic activation of the transient receptor potential vanilloid subtype 4 channel causes endothelial failure and circulatory collapse: part 2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2008; 326(2):443–452. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.134551>
11. Dunne O.M., Martin S.L., Sergeant G.P., McAuley D.F., O’Kane C.M., Button B., McGarvey L.P., Lundy F.T. TRPV2 modulates mechanically induced ATP release from human bronchial epithelial cells. *Respir. Res.* 2024; 25(1):188. <https://doi.org/10.1186/s12931-024-02807-0>
12. Grace M.S., Baxter M., Dubuis E., Birrell M.A., Belvisi M.G. Transient receptor potential (TRP) channels in the airway: role in airway disease. *Br. J. Pharmacol.* 2014; 171(10):2593–2607. <https://doi.org/10.1111/bph.12538>
13. Sabnis S.A., Shadid M., Yost G.S., Reilly Ch.A. Human lung epithelial cells express a functional cold-sensing TRPM8 variant. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008; 39(4):466–474. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2007-0440OC>
14. Perel'man Yu.M., Naumov D.E., Prikhodko A.G., Kolosov V.P. [Mechanisms and manifestations of osmotic airway hyperresponsiveness]. Vladivostok: Dal'nauka; 2016 (in Russian). ISBN: 978-5-8044-1627-1.
15. Precision Melt Analysis™ Software. User Guide. Hercules, CA: Bio-Rad Laboratories, Inc., 2009. (Bio-Rad Bulletin № 10014811).
16. Database of single nucleotide polymorphisms (dbSNP). Bethesda (MD): National center for biotechnology information, national library of medicine. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/> (accessed: 12.06.2026).
17. Ul'yanychev N.V. [Systematic research in medicine]. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014 (in Russian).
18. Pfaffl M.W., Horgan G.W., Dempfle L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30(9):e36. <https://doi.org/10.1093/nar/30.9.e36>
19. Hurrell B., Shen S., Li X., Sakano Y., Kazemi M.H., Quach C., Shafiei-Jahani P., Sakano K., Ghiasi H., Akbari O. Piezo1 channels restrain ILC2s and regulate the development of airway hyperreactivity. *J. Exp. Med.* 2024; 221(5):e20231835. <https://doi.org/10.1084/jem.20231835>
20. Zheng M., Borkar N.A., Yao Y., Ye X., Vogel E.R., Pabelick C.M., Prakash Y.S. Mechanosensitive channels in lung disease. *Front. Physiol.* 2023; 14:1302631. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1302631>
21. Xiong H., Yang J., Guo J., Ma A., Wang B., Kang Y. Mechanosensitive piezo channels mediate the physiological and pathophysiological changes in the respiratory system. *Respir. Res.* 2022; 23(1):196. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02122-6>
22. Omini C., Brunelli G., Hernandez A., Daffonchio L. Bradykinin and substance P potentiate acetylcholine-induced bronchospasm in guinea-pig. *Eur. J. Pharmacol.* 1989; 163(1):195–197. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(89\)90419-6](https://doi.org/10.1016/0014-2999(89)90419-6)
23. Solway J., Leff A.R. Sensory neuropeptides and airway function. *J. Appl. Physiol.* (1985). 1991; 71(6):2077–2087. <https://doi.org/10.1152/jappl.1991.71.6.2077>
24. Bajoriūnas V., Tunaitytė A., Volkevičiūtė A., Abramavičius S., Bajoriūnienė I., Stankevičius E., Simonsen U. Involvement of nitric oxide in TRPV4-induced relaxations of mouse and human pulmonary arteries. *Biology (Basel)* 2026; 15(3):292. <https://doi.org/10.3390/biology15030292>
25. Francis S.H., Busch J.L., Corbin J.D. cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action. *Pharmacol. Rev.* 2010; 62(3):525–563. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002907>
26. Alpizar Y.A., Boonen B., Sanchez A., Jung C., López-Requena A., Naert R., Steelant B., Luyts K., Plata C., De Vooght V., Vannoirbeek J.A.J., Meseguer V.M., Voets T., Alvarez J.L., Hellings P.W., Hoet P.H.M., Nemery B., Valverde M.A., Talavera K. TRPV4 activation triggers protective responses to bacterial lipopolysaccharides in airway epithelial cells. *Nat. Commun.* 2017; 8(1):1059. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01201-3>
27. Zergane M., Kuebler W.M., Michalick L. Heteromeric TRP channels in lung inflammation. *Cells* 2021; 10(7):1654. <https://doi.org/10.3390/cells10071654>

Информация об авторах:

Айкуш Славиковна Манукян, аспирант, младший научный сотрудник, лаборатория механизмов вирус-ассоциированных патологий развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: doctor_manukyan@mail.ru

Анна Григорьевна Приходько, д-р мед. наук, главный научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: prih-anya@ya.ru

Author information:

Aykush S. Manukyan, Postgraduate Student, Junior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Virus-Associated Developmental Pathologies, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: doctor_manukyan@mail.ru

Anna G. Prikhodko, MD, PhD, DSc (Med.), Main Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: prih-anya@ya.ru

Поступила 22.06.2026
Принята к печати 27.07.2026

Received June 22, 2026
Accepted July 27, 2026