

# ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.248/.23-002(575.21):612.225/.273.2

## ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОСПАЛЕНИЯ БРОНХОВ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ РЕАКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА ГИПООСМОЛЯРНЫЙ И ХОЛОДОВОЙ СТИМУЛЫ

А.Б.Пирогов<sup>1</sup>, А.Г.Приходько<sup>1</sup>, Ю.М.Перельман<sup>1</sup>, С.В.Зиновьев<sup>2</sup>, Е.Ю.Афанасьева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

<sup>2</sup>Амурская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения РФ, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

### РЕЗЮМЕ

Цель настоящей работы состояла в сравнительном изучении фенотипов воспаления у больных бронхиальной астмой в зависимости от наличия гиперреактивности дыхательных путей к гипоосмолярному и холодному стимулам. У 49 больных бронхиальной астмой оценивали уровень контроля над заболеванием, вентиляционную функцию легких, реакцию дыхательных путей на ультразвуковую ингаляцию дистиллированной воды (ИДВ) и изокапническую гипервентиляцию холодным воздухом (ИГХВ), клеточный состав индуцированной мокроты. С целью поиска фенотипических различий в характере воспаления, больные были разделены на 4 группы: 1 группа – с гиперреактивностью дыхательных путей на оба стимула (осмотический и холодный); с изолированной гиперреактивностью бронхов на ИДВ (2 группа); с изолированной реакцией на ИГХВ (3 группа); с отсутствием реакции на оба триггера (4 группа). У пациентов 2 и 3 групп определен смешанный клеточный фенотип воспаления с преобладанием доли нейтрофильного компонента. Эозинофильно-нейтрофильный фенотип воспаления присутствовал у больных 1 группы с сочетанной реакцией дыхательных путей на гипоосмолярный и холодный стимулы. Эозинофильный фенотип воспаления был характерен для больных 4 группы с отсутствием гиперреактивности бронхов к исследуемым триггерам. Показано значение формирования цитограмм индуцированной мокроты и клеточных фенотипов воспаления как прогностических маркеров течения астмы и эффективности медикаментозной терапии.

*Ключевые слова:* гиперреактивность бронхов, гипоосмолярный и холодный стимулы, цитограмма, смешанный фенотип воспаления, эозинофильный фенотип воспаления.

### SUMMARY

## PHENOTYPICAL FEATURES OF BRONCHIAL INFLAMMATION IN PATIENTS WITH ASTHMA WITH DIFFERENT TYPES OF AIRWAY RESPONSE TO HYPOSMOLAR AND COLD STIMULI

A.B.Pirogov<sup>1</sup>, A.G.Prikhodko<sup>1</sup>, J.M.Prelman<sup>1</sup>, S.V.Zinov'ev<sup>2</sup>, E.Yu.Afanas'eva<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 67500, Russian Federation

The aim of the present work is to compare the inflammation phenotypes in patients with asthma depending on the presence of airway hyperresponsiveness to hyposmolar and cold stimuli. In 49 patients the level of asthma control, lung function, airway response to ultrasonically nebulized distilled water inhalation (DWI) and isocapnic hyperventilation with cold air (IHCA), cellular composition of the induced sputum were assessed. To find phenotypical differences in the character of inflammation, the patients were divided into 4 groups: the 1<sup>st</sup> group was with airway hyperresponsiveness to both stimuli (osmotic and cold); the 2<sup>nd</sup> group was with isolated bronchial hyperresponsiveness to DWI; the 3<sup>rd</sup> group was with isolated response to IHCA; the 4<sup>th</sup> group was without any response to both triggers. The patients of the 2<sup>nd</sup> and the 3<sup>rd</sup> groups were

**found to have a mixed cellular phenotype of inflammation with the domination of neutrophilic component. Eosinophilic-neutrophilic phenotype of inflammation was in the patients of the 1<sup>st</sup> group with the concomitant airway response to hyposmolar and cold stimuli. Eosinophilic phenotype of inflammation was typical for the patients of the 4<sup>th</sup> group without bronchial hyperresponsiveness to the triggers. The significance of the formation of cytograms of induced sputum and cellular phenotypes of inflammation has been shown as prognostic markers of asthma course and the efficiency of medical therapy.**

*Key words: bronchial hyperresponsiveness, hyposmolar and cold stimuli, cytogram, mixed phenotype of inflammation, eosinophilic phenotype of inflammation.*

Согласно современным представлениям, для выделения фенотипов бронхиальной астмы (БА) с целью выбора персонализированной терапии болезни в клинической практике первоочередное внимание должно быть уделено изучению гетерогенности бронхиального воспаления, ассоциированного с выраженным Th-2-воспалительным ответом или его отсутствием [6, 21].

Практическое значение для фенотипирования воспаления, позволяющего охарактеризовать патогенез и, тем самым, способствовать выделению эндотипа БА, прогнозировать динамику развития заболевания и реакцию на лечение [6, 11, 18], приобретает один из основных методов исследования мокроты – цитологический, с подсчетом процентного содержания клеток и формированием цитограммы. В результате многочисленных исследований получено представление о следующих клеточных паттернах цитограммы мокроты: эозинофильном ( $\geq 2\%$  эозинофилов), нейтрофильном ( $\geq 61\%$  нейтрофилов), смешанном, неэозинофильном (эозинофилы  $< 2\%$ ), нейтрофильном (малогранулоцитарном, нейтрофилы  $< 2\%$ ) [6]. Известно, что эозинофильный паттерн цитограммы ассоциируется с atopическим фенотипом БА, Th-2-иммунным ответом, положительной реакцией на лечение ингаляционными глюкокортикостероидами и антиинтерлейкиновыми препаратами (блокаторы IL-5) [9, 17]. Нейтрофильный фенотип мокроты индуцируется вирусной и бактериальной инфекцией, активизирующей Th-1 тип иммунного воспалительного ответа [20, 22]. По данным литературы, у 63,8% больных БА установлен эозинофильный фенотип воспаления, у 10% – нейтрофильный, у 10% – смешанный, у 26,2% – малогранулоцитарный фенотип воспаления, при этом подчеркивается независимость от фенотипа воспаления степени контроля над эффективностью лечения астмы [16].

Климатические условия Дальнего Востока, связанные с резкой сменой сезонов, неблагоприятными экологическими факторами, высоким риском дизадаптации и инфекционных заболеваний дыхательной системы, способствуют нестабильности фенотипа воспаления БА. Наибольший интерес представляет фенотипирование воспаления у больных БА с чрезмерной реакцией дыхательных путей на комплекс экологиче-

ски обусловленных триггеров, таких как высокая влажность и низкие температуры атмосферного воздуха, характерных для Тихоокеанского региона [3, 5]. В ряде клинических и молекулярно-генетических исследований БА выявлена схожесть механизмов формирования и развития фенотипов холодиндуцированной и осмоиндуцированной гиперреактивности бронхов. К молекулярным компонентам, опосредующим термо- и осморцепцию, относят подсемейство каналов с транзиторным рецепторным потенциалом TRP: TRPM8, TRPV1, TRPV4 и, предположительно, TRPV2 [7, 14]. TRP-рецепторы, широко экспрессированные на эпителиальных и соединительнотканых клетках респираторного тракта, при активации опосредуют широкий спектр провоспалительных биологических эффектов, таких, как синтез и секрецию воспалительных медиаторов, гиперсекрецию муцинов, сокращение бронхиальных лейомиоцитов [4, 7, 14]. Необходимо заметить, что, несмотря на некоторые общие черты в генетической основе холодовой и осмотической гиперреактивности, между этими двумя видами чрезмерной реакции бронхов существуют клиничко-патогенетические и молекулярно-фенотипические различия [5]. Особенности цитологического фенотипирования воспаления бронхов в данном случае остаются невыясненными.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение фенотипов воспаления у больных БА в зависимости от наличия гиперреактивности дыхательных путей к гипоосмолярному и холодному стимулам.

#### Материалы и методы исследования

У 49 больных персистирующей легкой и среднетяжелой БА (средний возраст  $43,2 \pm 1,8$  года) оценивали уровень контроля над заболеванием по данным валидизированного вопросника АСТ (Asthma Control Test), вентиляционную функцию легких, реакцию дыхательных путей ( $\Delta\text{ОФВ}_1$ ) на 3-минутную ультразвуковую ингаляцию дистиллированной воды (ИДВ) и стандартную 3-минутную изокапническую гипервентиляцию холодным ( $-20^\circ\text{C}$ ) воздухом (ИГХВ) [1, 2], исследовали клеточный состав индуцированной мокроты (ИМ).

Сбор ИМ осуществляли по стандартной методике под спирометрическим контролем [10]. Исследование проводилось не позднее 2 часов после получения мокроты. В камере Горяева подсчитывали количество клеток в единице нативного материала ИМ стандартным методом. Для уточнения клеточного состава 50 мкл ИМ наносили на предметные стекла, нагретые до температуры  $37^\circ\text{C}$ . Мазки изготавливали стандартным методом Е.А.Кост и высушивали на воздухе в течение 5-10 минут при температуре  $37^\circ\text{C}$  путем помещения в вентилируемый термостат ТМ-2. После фиксации на протяжении 10 минут в парах 40% раствора формалина мазки окрашивались в 4-5% водном красителе Романовского-Гимза при pH 6,8.

Исследование микропрепаратов ИМ проводили по общепринятой методике при помощи светооптической иммерсионной микроскопии с подсчетом не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в центральных и перифери-

ческих частях мазка. Предварительно отбирали материал с минимальным уровнем контаминации плоскоклеточным эпителием (менее 20% плоских эпителиоцитов от всех клеток). Подсчитанное количество нейтрофильных лейкоцитов, эозинофильных лейкоцитов, макрофагов, лимфоцитов и клеток бронхиального эпителия выражали в процентах.

Условия проведения функциональных исследований были соблюдены в соответствии с Международными согласительными документами. Во избежание влияния циркадных ритмов на результаты исследования все пациенты обследовались в первую половину дня. Больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания.

Статистический анализ полученного материала проводили на основе стандартных методов вариационной статистики. Для определения достоверности различий использовали непарный критерий t (Стьюдента), в случаях негауссовых распределений – непарметрические критерии Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами проводили корреляционный анализ, рассчитывали коэффициент корреляции (r). Для всех величин принимали во внимание уровни значимости (p) 0,05; 0,01; 0,001.

**Результаты исследования и их обсуждение**

С целью поиска фенотипических различий в характере воспаления, все больные были разделены на 4 группы (рис.): 1 группа (13 человек) – с гиперреактивностью дыхательных путей на оба стимула (осмотиче-

ский и холодовой); 2 группа (14 человек) – с высокой чувствительностью бронхов только на ИДВ; 3 группа (11 человек) – с гиперреактивностью только на ИГХВ; 4 группа (11 человек) – с отсутствием реакции на оба триггера. Внутригрупповые различия в реакции на бронхопровокационные стимулы представлены на рисунке.

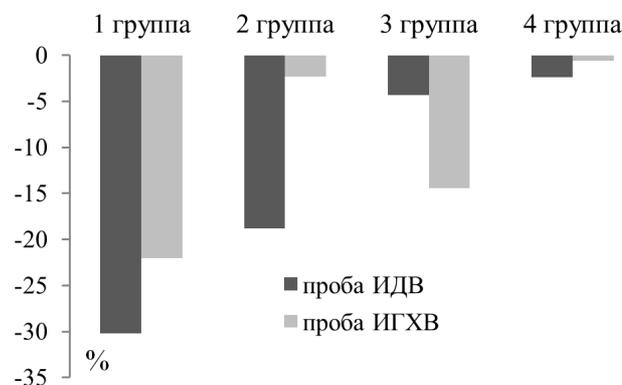


Рис. Внутригрупповые различия в реакции на бронхопровокационные стимулы.

Больные были сопоставимы по основным антропометрическим параметрам. При оценке исходных параметров вентиляционной функции лёгких в первых трех группах, в сравнении с 4 группой отмечалось снижение скоростных показателей форсированного выдоха с достоверными различиями по МОС<sub>50</sub>, МОС<sub>25-75</sub> (табл. 1). Уровень контроля болезни, по данным вопросника АСТ, имел тенденцию к снижению у больных 1 группы (12,2±0,6 баллов), по отношению к больным 2 и 3 групп (14,8±1,1 и 13,9±1,6 баллов, соответственно, p>0,05) и достоверно отличался от пациентов, не имевших реакции на триггеры (16,3±1,81 баллов, p<0,05).

**Таблица 1**

**Показатели вентиляционной функции легких (M±m)**

Показатели, % долж.	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
ЖЕЛ	96,0±3,2	99,5±3,2	97,3±2,4	103,5±4,0
ОФВ <sub>1</sub>	84,7±3,1	90,2±3,1	84,9±3,0	95,2±5,5
ОФВ <sub>1</sub> /ЖЕЛ	88,0±2,5	91,7±1,4	88,0±2,5	92,8±3,0
ПОС выд.	87,4±3,7	99,1±5,4	93,9±4,7	106,7±7,7 p<0,05
МОС <sub>50</sub>	55,4±4,8	63,48±4,9	54,5±4,9	81,3±6,6 p<0,05; p <sub>2</sub> <0,05
МОС <sub>25-75</sub>	54,0±4,7	61,9±4,6	53,4±5,0	77,4±10,1 p<0,05; p <sub>2</sub> <0,05

*Примечание:* здесь и в следующей таблице p – уровень значимости различий показателя по сравнению с 1 группой; p<sub>1</sub> – уровень значимости различий показателя по сравнению со 2 группой; p<sub>2</sub> – достоверность различий показателей между 3 и 4 группами.

Фенотипы воспаления бронхов у больных исследуемых групп оценивались по результатам цитологического исследования микропрепаратов ИМ и формирования цитогрaмм, отражающих содержание в мокроте каждой клеточной популяции (табл. 2).

При анализе цитогрaмм больных в 1-3 группах в популяции гранулярных лейкоцитов (эозинофилов и нейтрофилов) выявлена значительная доля нейтрофильного компонента, с преобладанием их числа у больных 1 группы с сочетанной гиперреактивностью

дыхательных путей, по отношению к пациентам с изолированной реакцией на один из стимулов. Количество нейтрофилов в ИМ у больных 4 группы, не имевших

реакции на стимулы, было достоверно ниже в сравнении с 1 группой.

Таблица 2

Клеточный состав индуцированной мокроты, в % (M±m)

Группы	Нейтрофилы	Эозинофилы	Макрофаги	Лимфоциты	Эпителий
1 группа	26,4±1,3	22,3±2,9	45,5±3,1	3,7±0,3	2,1±0,2
2 группа	22,9±4,4	18,7±3,1	50,8±5,5	3,0±0,4	1,8±0,4
3 группа	22,1±1,6 p<0,05	15,6±2,5	57,4±3,4 p<0,05	3,0±0,4	1,8±0,1
4 группа	19,0±2,3 p<0,01	19,1±6,1	43,2±5,6 p <sub>2</sub> <0,05	4,8±1,3	0,74±0,3 p<0,001; p <sub>1</sub> <0,05; p <sub>2</sub> <0,05

Содержание эозинофилов в цитограмме больных с сочетанной реакцией на оба стимула оказалось достаточно высоким, хотя достоверных межгрупповых отличий в количестве эозинофилов ИМ не было найдено. Наибольшее число макрофагов было зарегистрировано в цитограммах пациентов 3 группы. По уровню лимфоцитов цитограммы мокроты во всех исследуемых группах достоверно не отличались. Обращает на себя внимание, что в группах больных с положительной реакцией на триггеры наблюдалось повышение степени десквамации бронхиального эпителия более чем в два раза, по сравнению с пациентами 4 группы.

Можно констатировать, что в популяции полиморфноядерных лейкоцитов в клеточном составе ИМ больных 2 и 3 групп доминировало содержание нейтрофилов над эозинофилами. Для цитограммы ИМ пациентов 1 группы, с сочетанной реакцией на стимулы, характерно повышение уровня, как нейтрофилов, так и эозинофилов. Эти клетки, образующие популяцию гранулоцитов бронхиального воспалительного инфильтрата, суммарно увеличенную на фоне падения количества макрофагов, встречались приблизительно в равном количестве. Близкими по значению были и доли эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитов в ИМ пациентов 4 группы, однако показатель нейтрофилов в данной группе был ниже, чем в других группах.

Полученные данные цитологического исследования ИМ больных БА свидетельствуют о различных типах бронхиального воспаления, связанных с определёнными видами гиперреактивности. У больных с отсутствием гиперреактивности дыхательных путей на триггеры фенотип воспаления бронхов эозинофильный, что указывает на атопический механизм астмы. Наличие сочетанной гиперреактивности дыхательных путей на ИДВ и ИГХВ ассоциировано со смешанным фенотипом воспаления. Смешанный нейтрофильно-эозинофильный фенотип воспаления, характеризующийся доминированием нейтрофилов над эозинофилами, является морфологической манифестацией реакции бронхов на холодovou триггер и присущ больным БА с холодovou бронхиальной гиперреактивностью. Сочетанную реакцию бронхов на гипоосмолярный и холодovou стимулы также манифестирует

смешанный гранулоцитарно-клеточный паттерн, который может быть более точно обозначен как эозинофильно-нейтрофильный. По-видимому, у больных БА с сочетанной реакцией бронхов на гипоосмолярный и холодovou стимулы происходит смена фенотипа воспаления по сравнению с больными, имеющими гиперреактивность только на один из стимулов. Подобное изменение фенотипа находит отражение как в нейтрофилии, так и эозинофилии мокроты.

Изменчивость фенотипа бронхиального воспаления, эозинофильный и нейтрофильный паттерны цитограммы мокроты призваны характеризовать тяжесть БА [12]. Как известно, у пациента может наблюдаться несколько клеточных фенотипов воспаления; во время обострения астмы у взрослых и детей чаще выявляется нейтрофильный фенотип, в период ремиссии – эозинофильный [6, 19]. Эозинофилии мокроты приписывают высокую прогностическую чувствительность, так как нарастание эозинофилии предшествует обострению БА [13], а эозинофильный фенотип воспаления сопровождается хорошим ответом на лечение ингаляционными глюкокортикостероидами и анти-IL-5-препаратами [9, 17]. Вместе с тем допускается, что увеличение уровня эозинофилов в мокроте сочетается с увеличением тяжести течения БА, вследствие чего доля эозинофилов рассматривается в качестве маркера тяжести течения астмы [8]. Нами было найдено, что у больных с сочетанной реакцией на гипоосмолярный и холодovou стимулы прослеживается четкая связь между содержанием эозинофилов в ИМ и степенью последующей реакции бронхов на пробу ИГХВ ( $r=0,68$ ;  $p<0,05$ ), а уровень контроля над заболеванием (ACT) обратно зависел от содержания эозинофилов в ИМ ( $r=-0,57$ ;  $p<0,05$ ). Для того чтобы показать характер и уровень зависимости между признаками, формирующими тяжесть состояния данной группы больных, взята совокупность параметров, на основе которых пошаговым регрессионным анализом отобраны наиболее значимые, и построено уравнение, моделирующее взаимосвязь эозинофилии ИМ со степенью холодovou гиперреактивности дыхательных путей и уровнем контроля БА:

$$\mathcal{E}_{ИМ} = 40,8 - 0,50 \times \Delta OFB_{хв} - 2,4 \times ACT,$$

где  $\mathcal{E}_{ИМ}$  – содержание эозинофилов в ИМ (в %),

ΔОФВ<sub>1хв</sub> – падение показателя на пробу ИГХВ (в %); АСТ – уровень контроля БА по данным вопросника АСТ на момент проведения пробы (в баллах). Регрессия значима с вероятностью 99,3%.

Оценивая взаимосвязь фенотипа воспаления бронхов и клинико-функциональной характеристики исследуемых групп больных БА, можно утверждать, что наиболее выраженное изменение параметров бронхиальной проходимости, тестируемое по динамике ОФВ<sub>1</sub> при проведении бронхопровокационных проб, отмечается у представителей 1 группы. Такие больные обладают чрезмерной реакцией дыхательных путей на оба (холодовой и осмотический) триггера, наименьшей суммой баллов по вопроснику АСТ, в полной мере соответствующей состоянию неконтролируемого течения болезни, и смешанным эозинофильно-нейтрофильным фенотипом воспаления, которому присуще наиболее высокое содержание нейтрофилов в ИМ. У пациентов 4 группы с отсутствием реакции дыхательных путей в ответ на бронхопровокацию осмотическим и холодовым стимулами регистрируется наиболее высокое количество баллов АСТ, фенотип воспаления является эозинофильным, то есть прогностически более благоприятным для эффективного ответа на медикаментозную терапию. Больные с изолированной гиперреактивностью бронхов демонстрируют склонность к смешанному нейтрофильно-эозинофильному фенотипу воспаления, занимая промежуточное положение по количеству баллов АСТ. Следует отметить, что смешанный нейтрофильно-эозинофильный фенотип воспаления был описан нами ранее в исследованиях, касающихся воспалительного паттерна дыхательных путей больных БА с реакцией на холодной триггер [5, 15].

Таким образом, гиперреактивность дыхательных путей больных БА к различным триггерам или их сочетаниям сопровождается изменчивостью фенотипа воспаления бронхов, что вполне возможно наблюдать в клинической практике по результатам цитологического исследования ИМ. Увеличение содержания в ИМ нейтрофилов сопутствует снижению проходимости дыхательных путей и неконтролируемому течению болезни, что становится особенно выраженным при одновременном повышении в цитограмме уровня эозинофилов. Такой смешанный эозинофильно-нейтрофильный паттерн воспаления выступает в роли маркера тяжести течения болезни и присутствует у больных БА с сочетанной чрезмерной реакцией бронхов на гипоосмолярный и холодовой стимулы. При изолированной реакции дыхательных путей только на холодовой либо на осмотический стимул нейтрофильный компонент в гранулоцитарной популяции мокроты остаётся значительным, однако снижается количество эозинофилов. Отсутствие гиперреактивности бронхов к гипоосмолярному и холодовому стимулам ассоциируется с эозинофильным фенотипом воспаления и относительно более благополучными клинико-функциональными параметрами течения БА.

Ценность определения фенотипа воспаления брон-

хов с помощью цитологического метода заключается не только в его прогностической значимости по отношению к тяжести течения астмы, обострению заболевания и эффективности выбора медикаментозного лечения, но и во вкладе в эндотипирование больных БА, с углублением понимания патофизиологических механизмов астмы. Цитологические паттерны воспаления остаются при этом неотъемлемой составной частью клинических фенотипов БА, актуальность формирования которых продиктована неуклонно нарастающей в современных условиях потребностью в оптимальной персонализированной терапии болезни.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант №14-25-00019).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Перельман Ю.М., Приходько А.Г. Диагностика холодовой гиперреактивности дыхательных путей: методические рекомендации. Благовещенск, 1998. 8 с.
2. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с.
3. Приходько А.Г. Реакция дыхательных путей на гипоосмолярный стимул // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2005. Вып.21. С.47–52.
4. Особенности течения бронхиальной астмы у больных с изолированной и сочетанной гиперреактивностью дыхательных путей на холодовой и гипоосмотический стимулы / А.Г.Приходько, Ю.М.Перельман, В.П.Колосов, Н.В.Ульянычев, С.В.Нарышкина, Е.Ю.Афанасьева // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2014. Вып.53. С.36–41.
5. Фенотипические различия и особенности воспаления у больных бронхиальной астмой с изолированной и сочетанной реакцией дыхательных путей на холодный воздух и дистиллированную воду / А.Г.Приходько, Ю.М.Перельман, А.Б.Пирогов, Е.А.Бородин, Е.В.Ушакова, Н.В.Ульянычев, А.В.Колосов // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2014. Вып.54. С.8–16.
6. В поисках истины: что такое бронхиальная астма? / Г.Б.Федосеев, В.И.Трофимов, Н.Л.Шапорова, В.А.Александрин, Н.А.Филлипова, К.Н.Крякунов // Пульмонология. 2015. Т.25, №1. С.5–18.
7. TRPV1 and TRPA1 stimulation induces MUC5B secretion in the human nasal airway in vivo / L.Alenmyr [et al.] // Clin. Physiol. Funct. Imaging. 2011. Vol.31, №6. P.435–444.
8. Usefulness of induced sputum eosinophil count to assess severity and treatment outcome in asthma patients / A.Bandyopadhyay [et al.] // Lung India. 2013. Vol.30, №2. P.117–123.
9. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma / M. Berry [et al.] // Thorax. 2007. Vol.62, №12. P.1043–1049.
10. Induced sputum in asthma: from bench to bedside / P.Bakakos [et al.] // Curr. Med. Chem. 2011. Vol.18, №10. P.1415–1422.
11. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomized controlled trial / R.H.Green [et al.]

// Lancet. 2002. Vol.360, №9347. P.1715–1721.

12. Asthma phenotypes: consistency of classification using induced sputum / R.J. Hancox [et al.] // *Respirology*. 2012. Vol.17, №3. P.461–466.

13. Markers of airway hyperresponsiveness in patients with well-controlled asthma / J.D.Leuppi [et al.] // *Eur. Respir. J.* 2001. Vol.18, №3. P.444–450.

14. Cold temperature induces hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism / M.C.Li [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011. Vol.128, №3. P.626–634.

15. Cell composition of induced sputum in patients with uncontrolled asthma and its participation in the formation of cold hyperresponsiveness / T.A.Maltseva [et al.] // *Eur. Respir. J.* 2013. Vol.42, Suppl.57. P.401.

16. Mohamed N.R., Grany E.A.A., Othman K.M. Analyses of induced sputum in patients with bronchial asthma // *Egypt. J. Chest. Dist. Tub.* 2014. Vol.63, №1. P.21–27.

17. Nair P. What is an «eosinophilic phenotype» of asthma? // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013. Vol.132, №1. P.81–83.

18. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum / J.L.Simpson [et al.] // *Respirology*. 2006. Vol.11, №1. P.54–61.

19. Different inflammatory phenotypes in adult and children with acute asthma / F.Wang [et al.] // *Eur. Respir. J.* 2011. Vol.38, №3. P.567–574.

20. Neutrophil degranulation and cell lysis is associated with clinical severity in virus-induced asthma / P.A.Wark [et al.] // *Eur. Respir. J.* 2002. Vol.19, №1. P.68–75.

21. Wenzel S. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches // *Nat. Med.* 2012. Vol.18, №5. P.716–725.

22. Bacteria in sputum of stable severe asthma and increased airway wall thickness / Q.Zhang [et al.] // *Respir. Res.* 2012. Vol.13. P.35. doi: 10.1186/1465-9921-13-35.

#### REFERENCES

1. Perelman J.M., Prikhodko A.G. The diagnosis of cold airway hyperresponsiveness: methodic guidelines. Blagoveshchensk; 1998 (in russian).

2. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka; 2011 (in russian).

3. Prikhodko A.G. Respiratory tract response to hypoosmotic stimulus. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2005; 21:47–52 (in russian).

4. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P., Ul'yanychev N.V., Naryshkina S.V., Afanas'eva E.Yu. Features of bronchial asthma clinical course in patients with isolated and combined airway hyperresponsiveness to cold and hyposmotic stimuli. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2014; 53:36–41 (in russian).

5. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Pirogov A.B., Borodin E.A., Ushakova E.V., Ul'yanychev N.V. Pheno-

typic differences and peculiarities of inflammation in asthmatics with isolated and combined airway hyperresponsiveness to cold air and distilled water. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ – Bulletin physiology and pathology of respiration* 2014; 54: 8-16 (in russian).

6. Fedoseev G.B., Trofimov V.I., Shaporova N.L., Aleksandrin V.A., Filippova N.A., Kryakunov K.N. Searching the truth: what is bronchial asthma? *Pul'monologiya* 2015; 25(1):5–18 (in russian).

7. Alenmyr L., Herrmann A., Högestätt E.D., Greiff L., Zygmunt P.M. TRPV1 and TRPA1 stimulation induces MUC5B secretion in the human nasal airway in vivo. *Clin. Physiol. Funct. Imaging* 2011; 31(6):435–444.

8. Bandyopadhyay A., Roy P.P., Saha K., Chakraborty S., Jash D., Saha D. Usefulness of induced sputum eosinophil count to assess severity and treatment outcome in asthma patients. *Lung India* 2013; 30(2):117–123.

9. Berry M., Morgan A., Shaw D.E., Parker D., Green R., Brightling C., Bradding P., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma. *Thorax* 2007; 62(12):1043–1049.

10. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: from bench to bedside. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18(10):1415–1422.

11. Green R.H., Brightling C.E., McKenna S., Hargadon B., Parker D., Bradding P., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomized controlled trial. *Lancet* 2002; 360(9347):1715–1721.

12. Hancox R.J., Cowan D.C., Aldridge R.E., Cowan J.O., Palmay R., Williamson A., Town G.I., Taylor D.R. Asthma phenotypes: consistency of classification using induced sputum. *Respirology* 2012; 17(3):461–466.

13. Leuppi J.D., Salome C.M., Jenkins C.R., Koskela H., Brannan J.D., Anderson S.D., Andersson M., Chan H.K., Woolcock A.J. Markers of airway hyperresponsiveness in patients with well-controlled asthma. *Eur. Respir. J.* 2001; 18(3):444–450.

14. Li M.C., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128(3):626–634.

15. Maltseva T.A., Pirogov A.B., Kolosov V.P., Naryshkina S.V., Ushakova E.V. Cell composition of induced sputum in patients with uncontrolled asthma and its participation in the formation of cold hyperresponsiveness. *Eur. Respir. J.* 2013; 42(57):401s.

16. Mohamed N.R., Grany E.A.A., Othman K.M. Analyses of induced sputum in patients with bronchial asthma. *Egypt. J. Chest. Dist. Tub.* 2014; 63(1):21–27.

17. Nair P. What is an «eosinophilic phenotype» of asthma? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132(1):81–83.

18. Simpson J.L., Scott R., Boyle M.J., Gibson P.G. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirology* 2006; 11(1):54–61.

19. Wang F., He X.Y., Baines K.J., Gunawardhana L.P., Simpson J.L., Li F., Gibson P.G. Different inflammatory phenotypes in adult and children with acute asthma. *Eur. Respir. J.* 2011; 38(3):567–574.

20. Wark P.A., Johnston S.L., Moric I., Simpson J.L., Hensley M.J., Gibson P.G. Neutrophil degranulation and cell lysis is associated with clinical severity in virus-induced asthma. *Eur. Respir. J.* 2002; 19(1). P. 68–75.

21. Wenzel S. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat. Med.* 2012; 18(5):716–725.

22. Zhang Q., Illing R., Hui C.K., Downey K., Carr D., Stearn M., Alshafi K., Menzies-Gow A., Zhong N., Fan Chung K. Bacteria in sputum of stable severe asthma and increased airway wall thickness. *Respir. Res.* 2012. Vol.13. P.35 doi: 10.1186/1465-9921-13-35.

*Поступила 02.11.2015*

*Контактная информация*

*Алексей Борисович Пирогов,*

*кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории профилактики НЗЛ,*

*Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания,*

*675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.*

*E-mail: dncfpd@ramn.ru*

*Correspondence should be addressed to*

*Aleksey B. Pirogov,*

*MD, PhD, Associate professor, Senior staff scientist of Laboratory*

*of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases,*

*Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration,*

*22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.*

*E-mail: dncfpd@ramn.ru*