

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ**

**«ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ ДЫХАНИЯ»**

БЮЛЛЕТЕНЬ

**ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ
ДЫХАНИЯ**

Выпуск 86

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
академик РАН В.П.Колосов

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

И.А.Андреевская, д-р биол. наук
И.В.Довжикова, д-р биол. наук
Н.А.Ишутина, д-р биол. наук
А.Н.Одиреев, д-р мед. наук /отв. секретарь/
Ю.М.Перельман, член-корр. РАН, д-р мед. наук,
проф. /зам. редактора/
А.Г.Приходько, д-р мед. наук
В.П.Самсонов, д-р мед. наук, проф.

Благовещенск 2022

Редакционный совет

М.В.Антонюк, д-р мед. наук, проф. (г. Владивосток)
Б.И.Гельцер, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (г. Владивосток)
 Т.А.Гвозденко, д-р мед. наук (г. Владивосток)
 В.А.Добрых, д-р мед. наук, проф. (г. Хабаровск)
 И.В.Демко, д-р мед. наук, проф. (г. Красноярск)
 Г.П. Евсеева, д-р мед. наук (г. Хабаровск)
 Е.Л.Еремин, д-р техн. наук, проф. (г. Благовещенск)
 Г.Л.Игнатова, д-р мед. наук, проф. (г. Челябинск)
 В.К.Козлов, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (г. Хабаровск)
 О.А.Лебедько, д-р мед. наук, проф. (г. Хабаровск)
 Л.Г.Манаков, д-р мед. наук, проф. (г. Благовещенск)
 С.В.Нарышкина, д-р мед. наук, проф. (г. Благовещенск)
 В.А.Невзорова, д-р мед. наук, проф. (г. Владивосток)
 Т.П.Новгородцева, д-р биол. наук, проф. (г. Владивосток)
 В.И.Новосёлов, д-р биол. наук, проф. (г. Путино)
 А.Б.Пирогов, канд. мед. наук, доц. (г. Благовещенск)
 С.К.Соодаева, д-р мед. наук, проф. (г. Москва)
 Т.М.Сооронбаев, д-р мед. наук, проф. (г. Бишкек, Кыргызстан)
 С.В.Супрун, д-р мед. наук (г. Хабаровск)
 В.И.Трофимов, д-р мед. наук, проф. (г. Санкт-Петербург)
 Б.А.Черняк, д-р мед. наук, проф. (г. Иркутск)
 С.Д.Чжоу, д-р мед. наук, проф. (г. Чунцин, КНР)
 Я.Н.Шойхет, член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф. (г. Барнаул)

Адрес редакции:

675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

Телефон (факс) – (8-4162) 77-28-07

E-mail: bulleten.fpd@mail.ru; dncfpd@dncfpd.ru

<https://cfpd.elpub.ru/jour>

**Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных изданий,
в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций
на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.**

Сведения о журнале публикуются в ведущих отечественных (ВИНТИ РАН, Российская государственная библиотека, Научная электронная библиотека (eLIBRARY.RU) – индексация в РИНЦ (ядро РИНЦ) и Russian Science Citation Index (RSCI), НЭИКОН – платформа Elpub) и международных (Ulrich's Periodicals Directory, CrossRef, WorldCat, Google Scholar, Lens, Research4Life, Mendeley, Index Copernicus и др.) библиометрических базах данных.

Основан в 1998 году

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (регистрационный номер и дата принятия решения о регистрации:

серия ПИ № ФС77-76667 от 26 августа 2019 г.)

Подписной индекс в объединенном каталоге «Роспечать» 18454.

FEDERAL STATE BUDGETARY
SCIENTIFIC INSTITUTION

FAR EASTERN SCIENTIFIC CENTER OF
PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY
OF RESPIRATION

BULLETIN
PHYSIOLOGY AND
PATHOLOGY OF
RESPIRATION

Issue 86

CHIEF EDITOR
V.P.Kolosov, MD, PhD, DSc, Professor,
Academician of RAS

ASSOCIATED EDITORS:
I.A.Andrievskaya, PhD, DSc
I.V.Dovzhikova, PhD, DSc
N.A.Ishutina, PhD, DSc
A.N.Odireev, MD, PhD, DSc /Executive Editor/
J.M.Perelman, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding
member of RAS /Assistant Chief Editor/
A.G.Prikhodko, MD, PhD, DSc
V.P.Samsonov, MD, PhD, DSc, Professor

Blagoveshchensk 2022

Editorial Board

M.V.Antonyuk, MD, PhD, DSc, Professor (*Vladivostok, Russian Federation*)

B.I.Geltser, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding member of RAS (*Vladivostok, Russian Federation*)

T.A.Gvozdenko, MD, PhD, DSc (*Vladivostok, Russian Federation*)

V.A.Dobrykh, MD, PhD, DSc, Professor (*Khabarovsk, Russian Federation*)

I.V.Demko, MD, PhD, DSc, Professor (*Krasnoyarsk, Russian Federation*)

G.P.Evseeva, MD, PhD, DSc (*Khabarovsk, Russian Federation*)

E.L.Eremin, PhD, DSc, Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)

G.L.Ignatova, MD, PhD, DSc, Professor (*Chelyabinsk, Russian Federation*)

V.K.Kozlov, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding member of RAS (*Khabarovsk, Russian Federation*)

O.A.Lebedko, MD, PhD, DSc (*Khabarovsk, Russian Federation*)

L.G.Manakov, MD, PhD, DSc, Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)

S.V.Naryshkina, MD, PhD, DSc, Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)

V.A.Nevzorova, MD, PhD, DSc, Professor (*Vladivostok, Russian Federation*)

T.P.Novgorodtseva, PhD, DSc, Professor (*Vladivostok, Russian Federation*)

V.I.Novoselov, PhD, DSc, Professor (*Pushchino, Russian Federation*)

A.B.Pirogov, MD, PhD, Associate Professor (*Blagoveshchensk, Russian Federation*)

S.K.Soodaeva, MD, PhD, DSc, Professor (*Moscow, Russian Federation*)

T.M.Sooronbaev, MD, PhD, DSc, Professor (*Bishkek, Kyrgyzstan*)

S.V.Suprun, MD, PhD, DSc (*Khabarovsk, Russian Federation*)

V.I.Trofimov, MD, PhD, DSc, Professor (*St.Petersburg, Russian Federation*)

B.A.Chernyak, MD, PhD, DSc, Professor (*Irkutsk, Russian Federation*)

X.D.Zhou, MD, PhD, DSc, Professor (*Chongqing, China*)

Ya.N.Shoikhet, MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding member of RAS (*Barnaul, Russian Federation*)

Editorial office:

22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

Phone (fax) – (8-4162) 77-28-07

E-mail: bulleten.fpd@mail.ru; dncfpd@dncfpd.ru

<https://cfpd.elpub.ru/jour>

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

<i>З.Р.Махкамова, И.Ю.Ткаченко.</i> Тенденции в эпидемиологии туберкулеза в Республике Крым за период 2014-2021 гг.....	8	<i>Z.R.Makhkamova, I.Yu.Tkachenko.</i> Trends in tuberculosis epidemiology in the Republic of Crimea for the period 2014-2021
<i>И.Ю.Сугайло, Д.А.Гассан, О.О.Котова, Д.Е.Наумов, Я.Г.Горчакова, Е.Г.Шелудько, Е.Ю.Афанасьева.</i> Влияние полиморфизма <i>TRPM8</i> на прогрессирование бронхиальной обструкции у больных хронической обструктивной болезнью легких.....	15	<i>I.Yu.Sugaylo, D.A.Gassan, O.O.Kotova, D.E.Naumov, Y.G.Gorchakova, E.G.Sheludko, E.Yu.Afanas'eva.</i> The influence of <i>TRPM8</i> polymorphism on the progression of bronchial obstruction in patients with chronic obstructive pulmonary disease
<i>Д.Е.Наумов, И.Ю.Сугайло, Д.А.Гассан, О.О.Котова, Я.Г.Горчакова, Е.Г.Шелудько.</i> Особенности экспрессии TRP каналов и цитокиновый профиль мокроты у больных хронической обструктивной болезнью легких с прогрессирующей бронхиальной обструкцией.....	24	<i>D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, D.A.Gassan, O.O.Kotova, Y.G.Gorchakova, E.G.Sheludko.</i> Peculiarities of TRP channels expression and cytokine profile of sputum in patients with chronic obstructive pulmonary disease and progressive bronchial obstruction
<i>О.О.Котова, Д.А.Гассан, Д.Е.Наумов, И.Ю.Сугайло, Я.Г.Горчакова.</i> Модулирующий эффект каналов TRPA1 и TRPM8 на продукцию цитокинов про- и противовоспалительными макрофагами.....	33	<i>O.O.Kotova, D.A.Gassan, D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, Y.G.Gorchakova.</i> Modulating effect of TRPA1 and TRPM8 channels on cytokine production by pro- and anti-inflammatory macrophages
<i>А.Б.Пирогов, А.Г.Приходько, Ю.М.Перельман.</i> Нейтрофилы и миело-пероксидаза дыхательных путей больных бронхиальной астмой при холод-индукционном бронхоспазме..	40	<i>A.B.Pirogov, A.G.Prikhodko, J.M.Perelman.</i> Airway neutrophils and myeloperoxidase in asthma patients with cold-induced bronchoconstriction
<i>Е.Н.Супрун.</i> Оценка мембранныго потенциала митохондрий иммунокомпетентных клеток крови при бронхиальной астме у детей в зависимости от контролируемости течения заболевания.....	50	<i>E.N.Suprun.</i> Assessment of the membrane potential of mitochondria in immunocompetent blood cells of children with asthma, depending on controllability of the course of the disease
<i>Е.Н.Супрун.</i> Прогнозирование неконтролируемого течения бронхиальной астмы у детей на основе полиморфизмов генов сигнальных молекул иммунной системы и генов детоксикации.....	56	<i>E.N.Suprun.</i> Prediction of uncontrolled course of bronchial asthma in children based on polymorphisms of genes of signaling molecules of the immune system and detoxification genes

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCH

<i>T.N.Golubova, I.Yu.Tkachenko.</i> Trends in tuberculosis epidemiology in the Republic of Crimea for the period 2014-2021	
<i>I.Yu.Sugaylo, D.A.Gassan, O.O.Kotova, D.E.Naumov, Y.G.Gorchakova, E.G.Sheludko, E.Yu.Afanas'eva.</i> The influence of <i>TRPM8</i> polymorphism on the progression of bronchial obstruction in patients with chronic obstructive pulmonary disease	
<i>D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, D.A.Gassan, O.O.Kotova, Y.G.Gorchakova, E.G.Sheludko.</i> Peculiarities of TRP channels expression and cytokine profile of sputum in patients with chronic obstructive pulmonary disease and progressive bronchial obstruction	
<i>O.O.Kotova, D.A.Gassan, D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, Y.G.Gorchakova.</i> Modulating effect of TRPA1 and TRPM8 channels on cytokine production by pro- and anti-inflammatory macrophages	
<i>A.B.Pirogov, A.G.Prikhodko, J.M.Perelman.</i> Airway neutrophils and myeloperoxidase in asthma patients with cold-induced bronchoconstriction	
<i>E.N.Suprun.</i> Assessment of the membrane potential of mitochondria in immunocompetent blood cells of children with asthma, depending on controllability of the course of the disease	
<i>E.N.Suprun.</i> Prediction of uncontrolled course of bronchial asthma in children based on polymorphisms of genes of signaling molecules of the immune system and detoxification genes	

<i>E.Y.O.Афанасьева.</i> Способ определения воздуходополненности легких у больных бронхиальной астмой с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей.....	62	<i>E.Y.Afanas'eva.</i> Method for lung inflation determining in asthma patients with osmotic airway hyperresponsiveness
<i>O.A.Абулдинова.</i> Особенности показателей лазерной допплеровской флюметрии у пациентов с бактериальной и вирусной (COVID-19) внебольничной пневмонией.....	68	<i>O.A.Abuldinova.</i> Features of laser doppler flowmetry in patients with bacterial and viral (COVID-19) community-acquired pneumonia
<i>Л.Г.Нахамчен, И.Н.Гориков, В.П.Колосов, А.Н.Одиреев, И.А.Андреевская, Н.А.Ишутина, А.В.Бушманов, И.В.Довжикова.</i> Иммуно-гормональная и допплерометрическая характеристика плацентарной недостаточности у беременных с обострением хронического простого бронхита, ассоциированным с реактивацией цитомегаловирусной инфекции.....	73	<i>L.G.Nakhamchen, I.N.Gorikov, V.P.Kolosov, A.N.Odireev, I.A.Andrievskaya, N.A.Ishutina, A.V.Bushmanov, I.V.Dovzhikova.</i> Immuno-hormonal and dopplerometric characteristics of placental insufficiency in pregnant women with exacerbation of chronic bronchitis associated with reactivation of cytomegalovirus infection
<i>И.Н.Гориков.</i> Морфологическое строение котиледонов с неконтрастированными кровеносными сосудами в плацентах у женщин, перенесших обострениеmono- и микст-цитомегаловирусной инфекции во втором триместре беременности.....	80	<i>I.N.Gorikov.</i> Morphological structure of cotyledons with non-contrasted blood vessels in the placenta of women who had an exacerbation of mono- and mixed-cytomegalovirus infection in the second trimester of pregnancy
<i>Э.В.Некрасов, Д.Е.Наумов.</i> Действие препаратов глицеролипидов из папоротника и хвоща на мононуклеарные клетки периферической крови человека в условиях <i>ex vivo</i>	91	<i>E.V.Nekrasov, D.E.Naumov.</i> Effect of glycerolipid preparations from fern and horsetail on human peripheral blood mononuclear cells under <i>ex vivo</i> conditions
ОБМЕН ОПЫТОМ		EXPERIENCE EXCHANGE
<i>А.В.Ленинин, Ю.М.Перельман, А.В.Ильин, А.В.Побережский, Е.А.Игнатьева, С.А.Крайнов.</i> Кисты и кистоподобные образования средостения: клинико-рентгенологические проявления.....	102	<i>A.V.Lenshin, J.M.Perelman, A.V.Il'in, A.V.Poberezhskiy, E.A.Ignat'eva, S.A.Kraynov.</i> Cysts and cyst-like formations of the mediastinum: clinical and radiological manifestations

ОБЗОРЫ**REVIEWS**

*И.В.Довжикова, И.А.Андреевская,
К.С.Лязгиян.* Роль эстрогенов в течении
и исходах COVID-19 в зависимости от
половой принадлежности больных..... 120

*И.С.Коваленко, Ю.К.Денисенко,
Т.П.Новгородцева, Н.В.Бочарова,
У.М.Оматова.* Перспективы фармако-
логического применения N-ацилэтано-
ламинов полиненасыщенных жирных
кислот в терапии заболеваний органов
дыхания на примере бронхиальной
астмы..... 129

Ли Ефэй, Чжсан Вэй, Чен Сюэ, Пан Чэнью.
Анализ медикаментозной терапии
бронхиальной астмы..... 138

*I.V.Dovzhikova, I.A.Andrievskaya,
K.S.Lyazgiyan.* COVID-19 and sex
differences: role of estrogen

*I.S.Kovalenko, Yu.K.Denisenko,
T.P.Novgorodtseva, N.V.Bocharova,
U.M.Omatova.* Prospects for the
pharmacological application of
N-acylethanolamines of polyunsaturated
fatty acids in the therapy of respiratory
diseases on the example of bronchial
asthma

Li Yefei, Zhang Wei, Chen Xue, Pang Chenyou.
Analysis of drug therapy for bronchial
asthma

УДК 614.2:616-002.5-036.22(470+477.75)

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-8-14

ТЕНДЕНЦИИ В ЭПИДЕМИОЛОГИИ ТУБЕРКУЛЕЗА В РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ ЗА ПЕРИОД 2014-2021 гг.

З.Р.Махкамова¹, Т.Н.Голубова¹, И.Ю.Ткаченко²

¹Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского», Медицинская академия имени С.И.Георгиевского, 295006, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7

²Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии», 295034, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Франко, 34

34

РЕЗЮМЕ. Цель. Оценка эпидемиологической ситуации по туберкулезу (ТБ) в Республике Крым (РК) за период 2014-2021 гг. на основании изучения показателей заболеваемости, распространенности и смертности. **Материалы и методы.** Анализ проводился на основании официальной данных, представленных ГБУЗ РК «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии». **Результаты.** За исследуемый период в РК заболеваемость ТБ снизилась в 2,1 раза. Выявлена тенденция снижения как заболеваемости всеми формами ТБ (темпер прироста -51,7%), так и ТБ легких (темпер прироста -50,2%). Заболеваемость деструктивными формами ТБ в РК снизилась в 1,6 раза, доля деструктивных форм среди впервые выявленных случаев ТБ составила 48,2%. Пик распространенности ТБ в РК приходится на 2014 г. (132,1 случаев на 100 тыс. населения). В последующие годы наблюдалась позитивная тенденция и к 2021 г. уровень показателя сократился в 1,7 раза, составив 77,8 случаев на 100 тыс. населения. За исследуемый период в регионе выявлено двукратное снижение показателя смертности от ТБ с 17,1 в 2014 г. до 8,3 случаев на 100 тыс. населения в 2021 г. (темпер прироста -51,5%). Несмотря на стабильное снижение уровня смертности от всех форм ТБ в РК, сохраняется стабильно высокая доля ТБ пациентов, умерших до 1 года наблюдения. Одной из причин негативной ситуации следует назвать позднюю выявляемость исследуемой патологии, что подтверждается средним показателем за период 2014-2021 гг. выявленных несвоевременно случаев заболевания ТБ, а также запущенных форм ТБ (33,7 и 22,5%, соответственно). За период пребывания РК в составе РФ в 2,1 раза выросло финансирование противотуберкулезной службы и, соответственно, возможность повысить качество и эффективность медицинской помощи больным ТБ, что является одной из важных причин позитивных тенденций в улучшении эпидемиологической ситуации по ТБ в регионе за период 2014-2021 гг. **Заключение.** За период 2014-2021 гг. в РК на фоне значительного улучшения финансирования противотуберкулезной службы в регионе наблюдалась позитивная динамика по основным показателям эпидемиологической ситуации по ТБ: заболеваемости, распространенности и смертности. При этом остается высокой доля больных ТБ, умерших до 1 года наблюдения.

Ключевые слова: туберкулез, эпидемиология, заболеваемость, распространенность, смертность, Республика Крым.

TRENDS IN TUBERCULOSIS EPIDEMIOLOGY IN THE REPUBLIC OF CRIMEA FOR THE PERIOD 2014-2021

Z.R.Makhkamova¹, T.N.Golubova¹, I.Yu.Tkachenko²

¹Vernadsky Crimean Federal University, Medical Academy named after S.I.Georgievsky, 5/7 Lenin Avenue, Simferopol,

Контактная информация

Татьяна Николаевна Голубова, канд. мед. наук, доцент кафедры общественного здоровья и организации здравоохранения Медицинской академии им. С.И.Георгиевского, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И.Вернадского», 295006, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7. E-mail: tn.golubova@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Tatiana N. Golubova, MD, PhD (Med.), Associate Professor of Department of Public Health, Healthcare and Health Economics of Medical Academy named after S.I.Georgievsky of the V.I.Vernadsky Crimean Federal University, 5/7 Lenin Ave., Simferopol, 295051, Republic of Crimea, Russian Federation. E-mail: tn.golubova@yandex.ru

Для цитирования:

Махкамова З.Р., Голубова Т.Н., Ткаченко И.Ю. Тенденции в эпидемиологии туберкулеза в Республике Крым за период 2014-2021 гг. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.8-14. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-8-14

For citation:

Makhkamova Z.R. Golubova T.N., Tkachenko I.Yu. Trends in tuberculosis epidemiology in the Republic of Crimea for the period 2014-2021. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):8-14 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-8-14

295006, Republic of Crimea, Russian Federation

²Crimean Republican Clinical Center of Phthisiology and Pulmonology, 34 Boulevard Franco, Simferopol, 295034,
Republic of Crimea, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To assess the epidemiological situation on tuberculosis (TB) in the Republic of Crimea in 2014-2021 based on the study of morbidity, prevalence and mortality. **Materials and methods.** The analysis was conducted based on official data presented by the Crimean Republican Clinical Center of Phthisiology and Pulmonology. **Results.** During the study period in the Republic of Crimea the TB incidence decreased in 2.1 times. The downward tendency of both the incidence of all forms of TB (the growth rate is 51.7%) and pulmonary TB (growth rate is 50.2%) has been detected. The incidence of destructive forms of TB in Crimea reduced by 1.6 times, the proportion of destructive forms among first-time detected cases of TB was 48.2%. The peak of TB prevalence in the Republic of Crimea was in 2014 (132.1 cases per 100,000 population). In the following years there was a positive trend and by 2021 the rate decreased by 1.7 times, amounting to 77.8 cases per 100 thousand population. During the study period in the region there was a 2-fold decrease in the TB mortality rate from 17.1 in 2014 to 8.3 cases per 100 thousand population in 2021 (growth rate -51.5%). Despite the steady decrease in the mortality rate from all forms of TB in the region, there is still a stable high proportion of TB patients who died before the first year of follow-up. One of the reasons for the negative situation should be called the late diagnostics of the pathology under study, which is confirmed by the average percentage for the period 2014-2021 of untimely detected cases of TB, as well as neglected forms of TB (33.7% and 22.5%, respectively). During the period when the Republic of Crimea was a part of the Russian Federation, the financing of TB service increased by 2.1 times and, accordingly, the possibility of improving the quality and efficiency of medical care for TB patients increased, which is certainly one of the important reasons for the positive trends in improving the epidemiological situation of TB in the region for the period 2014-2021. **Conclusion.** Over the period 2014-2021 in the Republic of Crimea, against the background of significant improvement in the financing of TB services in the region, positive dynamics in the main indicators of the epidemiological situation of TB (morbidity, prevalence and mortality) were observed. At the same time, the part of TB patients who died before the first year of follow-up remained high.

Key words: tuberculosis, epidemiology, incidence, prevalence, mortality, Republic of Crimea.

Туберкулез (ТБ) остается одной из самых смертоносных инфекций в мире и даже в первой четверти 21 века продолжает приводить к катастрофическим медицинским и социально-экономическим последствиям на всех континентах, что требует не ослаблять усилия по ликвидации глобальной эпидемии ТБ. Несмотря на реальную возможность профилактики и излечения от ТБ, ежедневно в мире около 28000 человек заболевают и более 4100 человек погибают от этой патологии. С начала тысячелетия совместные усилия по борьбе с ТБ сохранили десятки миллионов жизней, но пандемия COVID-19 перечеркнула достигнутые успехи [1]. Решение задач по сохранению и усилению контроля над ТБ в сложившейся ситуации возможно только на основе постоянного изучения и оценки закономерностей эпидемиологии в конкретно сложившихся условиях и анализа основных факторов, обуславливающих заболеваемость и смертность населения от ТБ на конкретных территориях [2].

В странах Европы в последние десятилетия отмечена наибольшая доля лекарственно-устойчивого ТБ на планете, а эффективность лечения самая низкая. Превалирующая часть случаев ТБ в регионе приходится на страны СНГ, где эпидемиологическая ситуация не улучшается в результате нарастающей социально-экономической нестабильности и как следствие, падения уровня жизни популяции [3, 4].

Показатели заболеваемости ТБ в значительной степени обусловлены уровнем и качеством жизни. По результатам анализа Росстата и ЮНИСЕФ определена связь между уровнем дохода и условиями проживания

и заболеваемостью ТБ, особенно среди молодого населения [5]. Несомненно влияние и качества противотуберкулезной помощи на распространённость ТБ. По данным исследований выявлены достоверные связи между эффективностью работы противотуберкулёзной службы и показателями заболеваемости, распространённости ТБ и общей инвалидности от ТБ [6].

Негативная тенденция по ТБ в России возникла с начала 90-х гг. 20-го и продолжилась в начале 21 столетия. В 1990-е годы уровень зарегистрированной заболеваемости ТБ вырос в России, как и практически во всех бывших республиках СССР, в 2,5 раза. При этом важно учитывать, что до 1995 г. при формировании показателя заболеваемости ТБ не учитывались данные по числу заболевших ТБ в учреждениях ФСИН и иностранных граждан. Соответственно, резкий рост заболеваемости ТБ начиная с 1995 г. частично можно объяснить более полной регистрацией случаев заболевания. Заболеваемость активным ТБ достигла максимума в 2000 г. (90 случаев на 100 тыс.). Затем наблюдалось незначительное снижение (до 82,7 на 100 тыс. в 2003 г.) и стабилизация в 2004-2007 гг. на уровне 82-83 случаев впервые выявленных заболеваний активным ТБ на 100 тыс. человек.

В 2004 г. ТБ был признан социально значимым заболеванием [7], после чего началась реализация государственной программы «Туберкулез», включающей дополнительное обеспечение субъектов Российской Федерации (РФ) необходимым медицинским оборудованием и противотуберкулезными препаратами [8].

Стабильный позитивный тренд по заболеваемости

ТБ сформировался в 2009-2020 гг.: снижение с 85 случаев на 100 тыс. населения в 2008 г. до 41 случая на 100 тыс. человек в 2019 г. (-51%). По данным оперативного учета, за 2020 г. заболеваемость активным ТБ составила 30 случаев на 100 тыс. человек (-27% по сравнению с 2019 г.) [9].

В Республике Крым (РК) за исследуемый период ухудшение уровня жизни и общего состояния здоровья населения, миграционные процессы, снижение расходов на здравоохранение также привели к росту заболеваемости ТБ [10, 11].

Несмотря на то, что с 2000 г. наблюдалась мировая и национальная тенденция снижения заболеваемости туберкулезом [12], в 2020 г. впервые более чем за десять лет отмечен рост числа случаев смерти от ТБ на фоне пандемии COVID-19 [1].

Эпидемиология ТБ в Крыму в той или иной степени связана с мировыми и национальными трендами. Изучение тенденций и структуры заболеваемости ТБ в регионе позволит оценить эпидемиологическую ситуацию и эффективность противотуберкулезных мероприятий на современном этапе.

Цель нашей работы – анализ современной эпидемиологической ситуации по ТБ в РК на основании изучения показателей заболеваемости, распространенности и смертности за период 2014-2021 гг.

Материалы и методы исследования

Анализ проводился на основании официальной данных по ТБ за 2014-2021 гг., представленных ГБУЗ РК «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии». Статистическая обработка и сравнительный анализ проводились в Microsoft

Excel.

Результаты исследования и их обсуждение

В целом за исследуемый период в РК выявлено стабильное снижение уровня заболеваемости ТБ. Тем не менее эпидемиологическая ситуация в регионе, как за последние 20-25 лет, так и сейчас остается неоднозначной. Негативные тенденции в эпидемиологической ситуации по ТБ в Крыму начались с 90-х гг. прошлого столетия ростом заболеваемости всеми формами ТБ с 28,9 случаев на 100 тыс. населения в 1989 г. до 68,4 случаев на 100 тыс. населения в 2000 г. [11]. Именно в этот период противотуберкулезная служба в Крыму испытывала дефицит финансирования и, соответственно, необходимых лекарственных препаратов, что негативно отразилось на ситуации с ТБ.

В РФ наблюдалась аналогичная динамика заболеваемости ТБ: по сравнению с показателями 80-х гг. прошлого века (34,0 случаев на 100 тыс. населения) уже в 90-е гг. наблюдался подъем показателя почти в 2,7 раза (90,7 случаев на 100 тыс. населения) [10, 13, 14]. Тренд стабилизации и дальнейшего снижения уровня заболеваемости, как по России в целом, так и в Крыму, отмечен с начала 2000-х гг., однако, если темпы снижения регистрируемой заболеваемости в РФ существенные, то в РК этот процесс происходит медленнее. Так, к 2015 г. показатель заболеваемости ТБ в Крыму в 1,3 раза превышал национальный уровень.

Анализ данных по ТБ в РК за исследуемый период выявил стабильное снижение уровня заболеваемости практически в 2 раза – с 72,9 до 35,2 случаев на 100 тыс. населения в 2014 г. и 2021 г., соответственно (рис. 1).

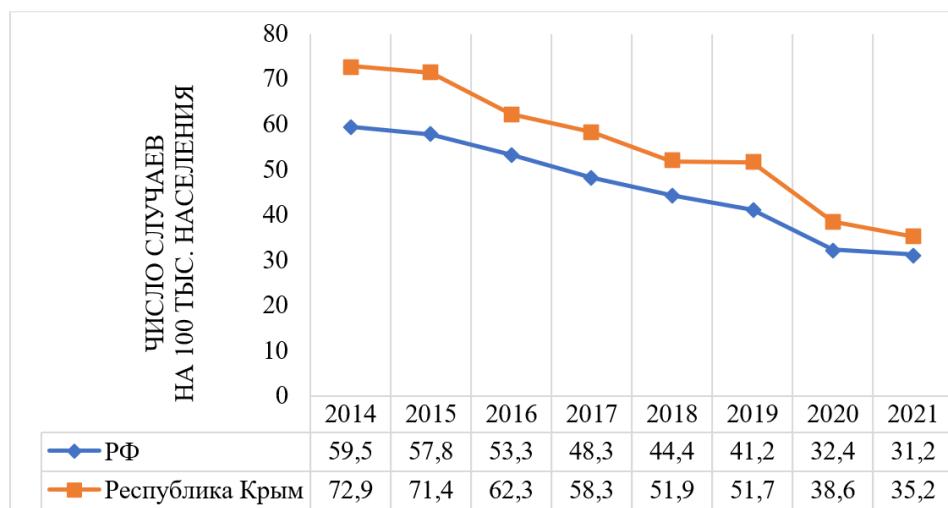


Рис. 1. Динамика заболеваемости ТБ в РФ и РК за период 2014-2021 гг. (на 100 тыс. населения).

За этот период в Крыму отмечено снижение заболеваемости как всеми формами ТБ (температура прироста

-51,70%), так и ТБ легких (температура прироста -50,2%) (рис.2).

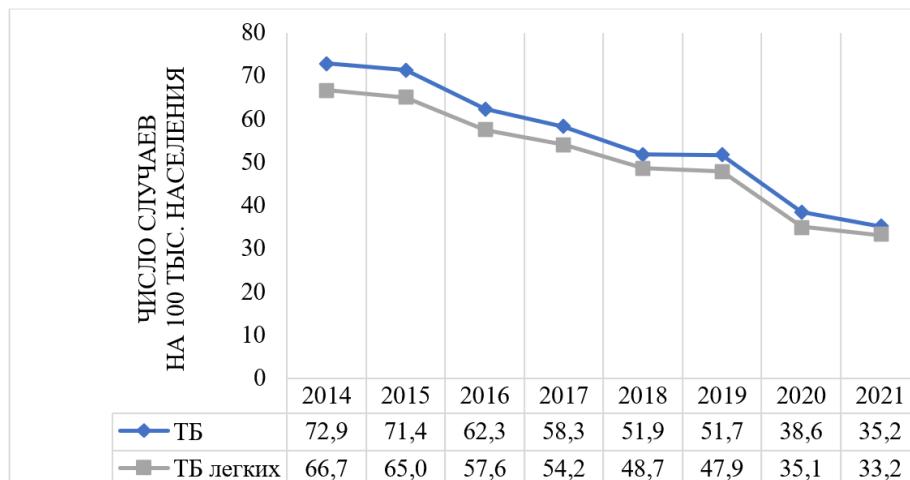


Рис. 2. Динамика заболеваемости всеми формами ТБ и ТБ легких в РК за 2014-2021 гг. (на 100 тыс. населения).

За период 2014-2021 гг. заболеваемость деструктивными формами ТБ в РК также стабильно снижалась: с 23,0 до 14,7 случаев на 100 тыс. населения, соответственно (темп прироста -36,1%). В среднем за исследуемый период доля деструктивных форм среди впервые выявленных случаев ТБ составила 48,2%.

Пик распространенности ТБ в РК зарегистрирован в 2014 г. (132,1 случаев на 100 тыс. населения). В последующие годы наблюдалась позитивная тенденция и в 2021 г. уровень показателя сократился в 1,7 раза, составив 77,8 случаев на 100 тыс. населения.

Следует отметить, что показатель распространенности ТБ недостаточно объективно отражает эпидемическую обстановку. В большей степени он дает представление о качестве и эффективности диспансерной работы противотуберкулезных учреждений.

После возвращения РК в состав РФ за период 2015-2021 гг. бюджетное финансирование противотуберкулезной службы в РК значительно выросло. Согласно финансовым отчетам ГБУЗ РК «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии» только финансирование на медикаменты и

перевязочные средства в 2021 г. составило 97 296 238,92 руб., что более чем в 2 раза превысило уровень 2015 г. – 46 657 532,38 руб. Приток финансирования, несомненно, позитивно повлиял на совершенствование материально-технической базы службы и комфортность пребывания пациентов в противотуберкулезных учреждениях, обеспеченность необходимыми химио-препаратами и диагностическими тестами. Это получило отражение в снижении показателя отрыва от лечения ТБ пациентов в 2021 г. до 5%, что соответствует нормативам ВОЗ. Позитивную динамику эффективности лечения подтверждает и снижение случаев рецидивов ТБ почти в 2 раза: с 17,6 случаев на 100 тыс. населения в 2014 г. до 9,0 случаев на 100 тыс. в 2021 г. (темпер прироста -48,9%).

Одним из наиболее информативных показателей для оценки эпидемической ситуации по ТБ является уровень смертности. За исследуемый период в регионе выявлено снижение показателя смертности с 17,1 в 2014 г. до 8,3 случаев на 100 тыс. населения в 2021 г. (темпер прироста -51,5%) (рис. 3).

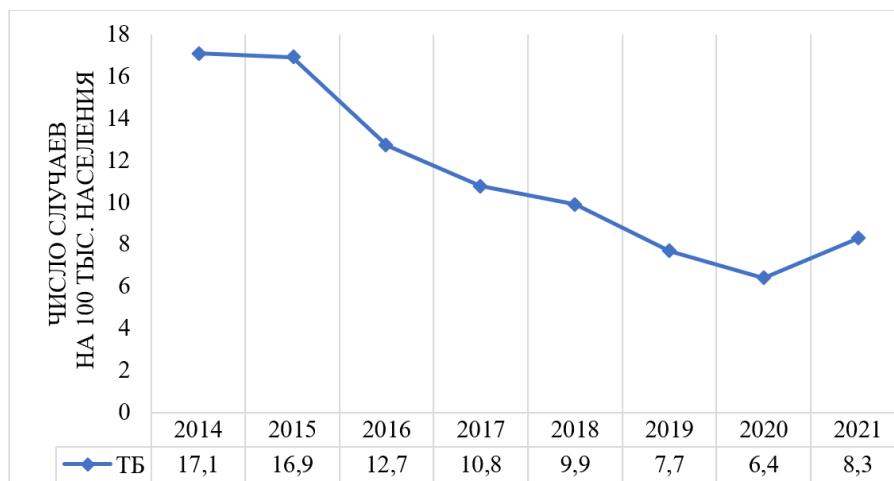


Рис. 3. Динамика уровня смертности от всех форм ТБ в РК за период 2014-2021 гг. (на 100 тыс. населения).

Несмотря на стабильное снижение уровня смертности от всех форм ТБ в РК, за исследуемый период

остается стабильно высокая доля ТБ пациентов, умерших до 1 года наблюдения (рис. 4).

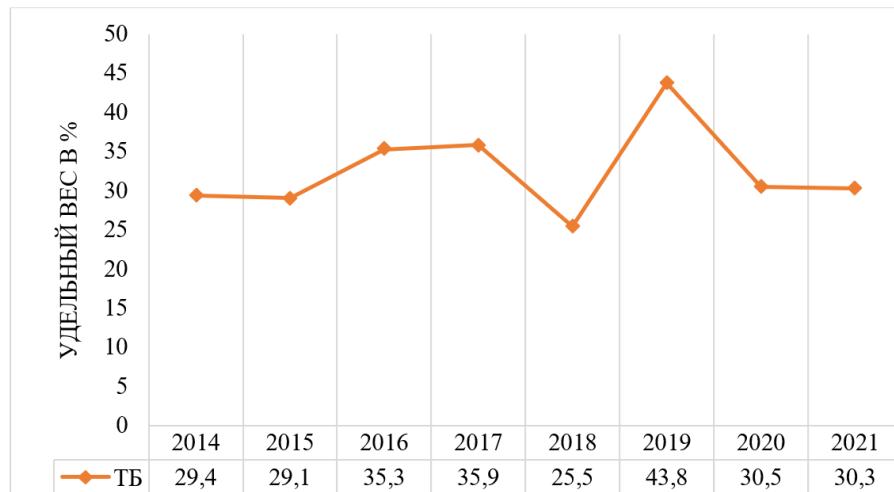


Рис. 4. Динамика удельного веса смертности от ТБ до 1 года наблюдения в РК за период 2014-2021 гг. (%).

Это можно связать с поздней выявляемостью исследуемой патологии. Подтверждением является средний показатель за период 2014-2021 гг. выявленных несвоевременно случаев заболевания ТБ, а также запущенных форм ТБ (33,7 и 22,5%, соответственно).

Выводы

1. Современная эпидемиологическая ситуация по ТБ в РК остается сложной, но наблюдается стабильный позитивный тренд. За период 2014-2021 гг. в субъекте выявлена тенденция снижения как уровня заболеваемости всеми формами ТБ, так и ТБ легких, включая деструктивные формы. Уровень распространенности всеми формами ТБ среди населения в регионе снизился в 1,7 раза.

2. Несмотря на снижение уровня смертности от всех форм ТБ среди населения в Крыму в 2,1 раза за исследуемый период, сохраняется стабильно высокая доля больных ТБ, умерших до 1 года наблюдения. Поздняя выявляемость, как одна из причин, подтверждается средним показателем за период 2014-2021 гг.

выявленных несвоевременно случаев заболевания ТБ, а также запущенных форм ТБ.

3. За период пребывания РК в составе РФ в 2,1 раза выросло финансирование противотуберкулезной службы и, соответственно, возможность повысить качество и эффективность медицинской помощи больным ТБ, что является одной из важных причин позитивных тенденций в улучшении эпидемиологической ситуации по ТБ в регионе за период 2014-2021 гг.

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

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

- Глобальные кампании ВОЗ по охране здоровья. Всемирный день борьбы с туберкулезом 2022 г. URL: <https://www.who.int/ru/campaigns/world-tb-day/2022>
- Молофеев А.Н. Современные тенденции в эпидемиологии туберкулеза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2004. 39 с. URL: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01002666444?page=1&rotate=0&theme=white>
- Skrahin A. 7th Union Europe Conference on Lung Health, 22–24 June 2016, Bratislava (Slovakia): a delegate report // Quant. Imaging Med. Surg. 2016. Vol.6, Iss.4. P.338–341. <https://doi.org/10.21037/qims.2016.08.03>
- UNAIDS Fact sheet. URL: <http://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
- Паролина Л.Е., Докторова Н.П., Данилов А.Н., Разина А.Ю. Социально-эпидемиологические проблемы и тенденции развития туберкулеза у лиц молодого возраста // Здравоохранение Российской Федерации. 2014. Т.58, №4. С.50–54. EDN: SLBYFF.
- Михайлова Ю.В., Сошников С.С., Шикина И.Б., Бирагова О.К. Анализ влияния мероприятий противотуберкулезной службы на эпидемиологические показатели туберкулеза // Социальные аспекты здоровья населения: электронный научный журнал. 2014. №6(40). С.19. EDN: TKUHRB.
- Постановление Правительства Российской Федерации от 1 декабря 2004 г. №715 «Об утверждении перечня

социально значимых заболеваний и заболеваний, представляющих опасность для окружающих». URL: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody=&prevDoc=102158143&backlink=1&&nd=102089734>

8. Федеральная целевая программа «Предупреждение и борьба с социально значимыми заболеваниями (2007–2012 годы)» (утв. постановлением Правительства РФ от 10 мая 2007 г. №280). URL: https://base.garant.ru/4184672/#block_1000

9. Щербакова Е.М. Заболеваемость населения России, 2019–2020 годы // Демоскоп Weekly. 2021. №897–898. EDN: WNLOJY.

10. Корецкая Н.М. Качественные изменения заболеваемости туберкулезом органов дыхания в Красноярском крае за период 1999 по 2012 гг. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013. Вып.49. С.33–36. EDN: RBQOGF.

11. Махкамова З.Р., Голубова Т.Н., Ткаченко И.Ю., Маматенко Л.Д. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в АР Крым // Научная дискуссия: вопросы медицины: материалы III международной заочной научно-практической конференции. М., 2012. С.62–66.

12. Туберкулез. Информационный бюллетень ВОЗ от 14.10.2020. URL: <https://www.who.int/news/item/14-10-2020-who-global-tb-progress-at-risk>

13. Манаков Л.Г., Ильин В.В. Мониторинг заболеваемости туберкулезом и неспецифическими заболеваниями легких в Амурской области // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013. Вып.48. С.8–15. EDN: QCFSPX.

14. Шилова М.В. Взгляд на эпидемическую ситуацию с туберкулезом в Российской Федерации (в современных социально-экономических условиях) // Российский электронный журнал лучевой диагностики. 2014. Т.4, №1. С.34–41. EDN: RZUKQB.

REFERENCES

- WHO global health days. World TB Day 2022.). Available at: <https://www.who.int/campaigns/world-tb-day/2022>
- Molofeev A.N. [Current Trends in Tuberculosis Epidemiology: abstract of PhD (Med) thesis]. Moscow; 2004 (in Russian). Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01002666444?page=1&rotate=0&theme=white>
- Skrahin A. 7th Union Europe Conference on Lung Health, 22–24 June 2016, Bratislava (Slovakia): a delegate report. *Quant. Imaging Med. Surg.* 2016; 6(4):338–341. <https://doi.org/10.21037/qims.2016.08.03>
- UNAIDS Fact sheet. Available at: <http://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
- Parolina L.E., Doctorova N.P., Danilov A.N., Razina A.Yu. [The social epidemiological issues and tendencies of development of tuberculosis in persons of young age]. *Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii = Health Care of the Russian Federation* 2014; 58(4):50–54 (in Russian).
- Mikhaylova Yu.V., Soshnikov S.S., Shikina I.B., Biragova O.K. [Analyzing impact of TB control measures on TB epidemiological indicators]. *Social aspects of population health* 2014; (6):19 (in Russian).
- [Decree of the Government of the Russian Federation of December 1, 2004 No.715 "On approval of the list of socially significant diseases and diseases that pose a danger to others"] (in Russian). Available at: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody=&prevDoc=102158143&backlink=1&&nd=102089734>
- [Federal target program "Prevention and control of socially significant diseases (2007–2012)"] (approved by the Decree of the Government of the Russian Federation of May 10, 2007 No.280). Available at: https://base.garant.ru/4184672/#block_1000
- Shcherbakova E.M. [Incidence of the Russian population, 2019–2020]. *Demoskop Weekly* 2021; (897–898) (in Russian).
- Koretskaya N.M. [Qualitative changes of pulmonary tuberculosis morbidity in the Krasnoyarsk region from 1999 till 2012]. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2013; (49):33–36 (in Russian).
- Mahkamova Z.R., Golubova T.N., Tkachenko I.Yu., Mamatenko L.D. [Epidemiological situation of tuberculosis in the Crimea]. In: Proceedings of the III International correspondence scientific-practical conference "Scientific discussion: medicine issues". Moscow; 2012: 62–66 (in Russian).
- WHO: Global TB progress at risk. 14 October 2020. Available at: <https://www.who.int/news/item/14-10-2020-who-global-tb-progress-at-risk>
- Manakov L.G., Il'in V.V. [Monitoring of tuberculosis and non-specific diseases morbidity in the Amur region]. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2013; (48):8–15 (in Russian).
- Shilova M.V. [The epidemiological situation of tuberculosis in the Russian Federation (in the current socioeconomic conditions)]. *Russian electronic journal of radiology* 2014; 4(1):34–41 (in Russian).

Информация об авторах:

Зебиниссо Рахматуллаевна Махкамова, канд. мед. наук, доцент кафедры общественного здоровья и организации здравоохранения Медицинской академии им. С.И.Георгиевского, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И.Вернадского»; e-mail: zebo_doc@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2765-6371>

Татьяна Николаевна Голубова, канд. мед. наук, доцент кафедры общественного здоровья и организации здравоохранения Медицинской академии им. С.И.Георгиевского, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет им. В.И.Вернадского»; e-mail: tn.golubova@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5419-8612>

Ирина Юрьевна Ткаченко, старший фтизиатр, амбулаторное отделение №1 Симферопольского противотуберкулезного диспансера, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии»; e-mail: irina26061965@yandex.ru

Author information:

Zebinusso R. Makhkamova, MD, PhD (Med.), Associate Professor of Department of Public Health, Healthcare and Health Economics of Medical Academy named after S.I.Georgievsky of the V.I.Vernadsky Crimean Federal University; e-mail: zebo_doc@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2765-6371>

Tatiana N. Golubova, MD, PhD (Med.), Associate Professor of Department of Public Health, Healthcare and Health Economics of Medical Academy named after S.I.Georgievsky of the V.I.Vernadsky Crimean Federal University; e-mail: tn.golubova@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5419-8612>

Irina Yu. Tkachenko, MD, Senior Phthisiatrician of Outpatient Department number 1 of Simferopol TB Dispensary, Crimean Republican Clinical Center of Phthisiology and Pulmonology; e-mail: irina26061965@yandex.ru

Поступила 25.11.2022

Принята к печати 14.12.2022

Received November 25, 2022

Accepted December 14, 2022

УДК 616.24-036:616.24-073.173:575.174.015.3

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-15-23

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА *TRPM8* НА ПРОГРЕССИРОВАНИЕ БРОНХИАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

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

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – тяжелое респираторное заболевание, основным фактором риска которого является табакокурение. Прогрессирование бронхиальной обструкции подвержено индивидуальной вариабельности, что указывает на немаловажную роль генетических факторов в патогенезе ХОБЛ. **Цель.** Установить возможные эффекты полиморфизмов гена *TRPM8* на скорость прогрессирования бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ. **Материалы и методы.** В исследование было включено 134 больных ХОБЛ. Всем пациентам выполнено генотипирование шести полиморфизмов гена *TRPM8* методом асимметричной LATE-ПЦР. С целью оценки скорости прогрессирования заболевания, дважды, с интервалом один год проводили спирометрию на фоне пробы с бронхолитиком, при этом снижение ОФВ₁ ≥ 50 мл расценивали как наличие прогрессирующей бронхиальной обструкции. **Результаты.** Пациенты были разделены на две группы: в первую группу вошли больные с прогрессированием бронхиальной обструкции (59 человек), во вторую – без прогрессирования бронхиальной обструкции (75 человек). При анализе взаимосвязи отдельных полиморфизмов гена *TRPM8* с выраженной прогрессированием ХОБЛ было обнаружено, что у пациентов с прогрессирующей обструкцией преобладает носительство С аллеля по полиморфизму rs11562975. В доминантной модели частота носительства генотипов GC+CC среди лиц из первой группы составляла 35,6% против 10,7% во второй группе ($p=0,001$). При этом эффект полиморфизма оставался значимым независимо от пола, возраста, индекса курения, исходного ОФВ₁ и частоты обострений (ОШ 3,7 95%ДИ [1,29; 10,3], $p=0,01$). Также носители аллеля С отличались более существенным снижением ОФВ₁ в течение года, по сравнению с больными, имевшими генотип GG (-120,0 [-340,0; -30,0] мл/год против -20,0 [-130,0; 40,0] мл/год, соответственно, $p=0,002$). **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют, что носительство С аллеля (генотипы GC и CC) по полиморфизму rs11562975 гена *TRPM8* является фактором риска более тяжелого течения ХОБЛ с прогрессирующим снижением ОФВ₁.

Ключевые слова: ХОБЛ, прогрессирование бронхиальной обструкции, *TRPM8*, генетический полиморфизм.

THE INFLUENCE OF *TRPM8* POLYMORPHISM ON THE PROGRESSION OF BRONCHIAL OBSTRUCTION IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

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

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

SUMMARY. Introduction. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a severe respiratory pathology, the main risk factor for which is tobacco smoking. The progression of bronchial obstruction is subject to individual variability

Контактная информация

Ивана Юрьевна Сугайло, 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: ivanka_888@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Ivana Yu. Sugaylo, 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: ivanka_888@mail.ru

Для цитирования:

Сугайло И.Ю., Гассан Д.А., Котова О.О., Наумов Д.Е., Горчакова Я.Г., Шелудько Е.Г., Афанасьева Е.Ю. Влияние полиморфизма *TRPM8* на прогрессирование бронхиальной обструкции у больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.15–23. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-15-23

For citation:

Sugaylo I.Yu., Gassan D.A., Kotova O.O., Naumov D.E., Gorchakova Y.G., Sheludko E.G., Afanas'eva E.Yu. The influence of *TRPM8* polymorphism on the progression of bronchial obstruction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (86):15–23 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-15-23

which indicates an important role of genetic factors in the pathogenesis of COPD. **Aim.** To establish the possible effects of *TRPM8* gene polymorphisms on the rate of bronchial obstruction progression in COPD patients. **Materials and methods.** The study included 134 COPD patients. All patients underwent genotyping of six *TRPM8* gene polymorphisms by asymmetric LATE-PCR. In order to assess the rate of the disease progression post-bronchodilator spirometry was performed twice with an interval of one year and a decrease in FEV₁ ≥50 ml was considered as the presence of progressive bronchial obstruction. **Results.** The patients were divided into two groups: the first group included patients with progression of bronchial obstruction (59 people), the second group included patients without progression of bronchial obstruction (75 people). When analyzing the relationship between the individual polymorphisms of *TRPM8* gene and the severity of COPD progression it was found that the carriage of the C allele for rs11562975 polymorphism predominates in patients with progressive obstruction. In the dominant model the frequency of GC+CC genotypes carriage among persons from the first group was 35.6% versus 10.7% in the second group ($p=0.001$). At the same time, the effect of polymorphism remained significant regardless of gender, age, pack-year index, baseline FEV₁ and the exacerbations frequency (OR 3.7, 95% CI [1.29; 10.3], $p=0.01$). In addition, carriers of the C allele were characterized by a more significant annual decrease in FEV₁ during the year compared with patients who had the GG genotype (-120.0 [-340.0; -30.0] ml/year vs. -20.0 [-130.0; 40.0] ml/year, respectively, $p=0.002$). **Conclusion.** The obtained results indicate that carriage of the C allele (genotypes GC and CC) for rs11562975 polymorphism of *TRPM8* gene is a risk factor for a more severe course of COPD with a progressive decrease in FEV₁.

Key words: COPD, progression of bronchial obstruction, *TRPM8*, genetic polymorphism.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является тяжелой респираторной патологией с высокими показателями заболеваемости и смертности во всем мире. Несомненными факторами риска данной нозологии являются табакокурение и вдыхание аэро-поллютантов. Интересно, что у лиц с анамнезом курения ХОБЛ формируется, по разным данным, лишь в 15-30% случаев [1-3], что указывает на важную роль генетических факторов в развитии заболевания. На фоне наличия генетической предрасположенности к ХОБЛ и действия сигаретного дыма наблюдается дисфункция клеток с формированием хронического воспаления. Ключевую роль в патогенезе заболевания играют эпителиальные клетки дыхательных путей и макрофаги, взаимодействующие с компонентами сигаретного дыма и пылевыми частицами [4]. Исследования последних лет показали, что специфическая активация клеток респираторного тракта компонентами сигаретного дыма и пылевыми частицами осуществляется, главным образом, посредством каналов с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP) [5]. Наибольший интерес с точки зрения особенностей патогенеза хронических респираторных заболеваний, в том числе ХОБЛ, представляют каналы TRPA1, TRPV1, TRPV4 и TRPM8 [6]. Ранее были выявлены полиморфизмы генов *TRPV1*, *TRPV4* и *TRPM8*, связанные с риском формирования ХОБЛ [7-9], однако обращает на себя внимание, что два исследования из трех проводились на китайской популяции. Прежде нами был выполнен ассоциативный анализ полиморфизмов гена *TRPM8* с формированием ХОБЛ и выявлен полиморфизм, оказывающий влияние на степень предрасположенности к развитию заболевания среди курильщиков [10]. Целью настоящего исследования являлось изучение эффекта генетических вариаций *TRPM8* на особенности течения ХОБЛ, в частности – скорость прогрессирования бронхиальной обструкции.

Материалы и методы исследования

Исследования 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.

Обследовано 134 пациента с ХОБЛ (стадии GOLD II-IV), из них 85% мужчин и 15% женщин, средний возраст – 62,0 (57,0; 67,0) лет. С целью оценки темпов прогрессирования бронхиальной обструкции всем больным было дважды выполнено спирометрическое исследование с бронхолитиком: исходно и через 12 месяцев. При этом оценивали величины объема форсированного выдоха за 1-ю сек (ОФВ₁) и соотношение ОФВ₁ к форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), рассчитывали разность между двумя измеренными значениями ОФВ₁ и при снижении показателя на 50 мл/год и более определяли наличие прогрессирующей бронхиальной обструкции.

Кровь для генетических исследований отбирали из локтевой вены и замораживали при -20°C до момента выделения ДНК. Выделение ДНК производили коммерческими наборами «ДНК-Экстрап-1» (ЗАО «Синтол», Россия) согласно протоколу производителя. Полиморфизмы гена *TRPM8* отбирали для исследования на основании следующих критериев: частота миорного аллеля >0,05, наличие литературных данных, свидетельствующих о вероятной функциональной значимости полиморфизма, для полиморфизмов регу-

ляторных областей – данные анализа *in silico*, указывающие на возможное влияние полиморфизма на связывание ДНК с транскрипционными факторами или малыми интерферирующими РНК (миРНК), для поли-

морфизмов кодирующих регионов гена – данные о влиянии на функцию белка. Перечень отобранных для анализа полиморфизмов и их краткая характеристика приведены в таблице 1.

Таблица 1
Полиморфизмы гена *TRPM8*, отобранные для исследования

Полиморфизм	Позиция	Регион
rs10166942 c.-990T>C	chr2:233916448	5'-фланкирующий регион
rs7577262 g.234818869G>A	chr2:233910224	5'-фланкирующий регион
rs11562975 c.750G>C p.Leu250=	chr2:233945906	экзон
rs17868387 c.752A>G p.Tyr251Cys	chr2:233945908	экзон
rs58514553 c.*727_*728insTTAT	chr2:234017983-234017987	3'-нетранслируемый регион
rs2052030 c.*1710C>G	chr2:234018966	3'-нетранслируемый регион
rs17865682 c.*2325A>G	chr2:234019581	3'-фланкирующий регион

Полиморфизмы *TRPM8* генотипировали методом асимметричной LATE (Linear-After-the-Exponential) ПЦР с анализом плавления флуоресцентных зондов. Реакционная смесь включала: ДНК-матрица 50 нг, 1x ПЦР-буфер, MgCl₂ 2,5 мМ, dNTP 0,25 мМ, праймеры и флуоресцентно-меченные зонды – в концентрациях, указанных в таблице 2, Hot Start Таq-полимераза, ингибиированная антителами – 1 ЕД, вода – до 25 мкл. Амплификацию проводили в режиме: предварительная денатурация – 95°C/1,5 мин, первый блок: 25 циклов – денатурация 92°C/1 сек, отжиг/элонгация при температуре, указанной в таблице 2 (Ta) – 15 сек, второй блок: 45 циклов – денатурация 92°C/1 сек, отжиг/элонгация при температуре, указанной в таблице 2 (Ta) – 15 сек, финальная элонгация – 72°C/5 мин. Анализ плавления зондов выполняли по протоколу: предварительная денатурация при 90°C/3 мин, гибридизация – 30°C/3 мин, плавление с градиентным повышением температуры от 30°C до 70°C с шагом 0,5°C. На графиках, отражающих зависимость -dF/dT (изменение уровня флуоресценции от температуры), регистрировали кривые плавления. Наблюдаемые пики плавления либо их комбинации отражали наличие отдельных аллельных вариантов гена.

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Все данные представлены в формате Me (Q1; Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью критерия U Манна-Уитни. Оценку ассоциаций генотипов и аллелей с качественными признаками проводили с использованием критерия χ² Пирсона или точного критерия Фишера (для четырехпольных таблиц). В качестве критического уровня значимости принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам оценки динамики ОФВ₁ пациенты были разделены на две группы. В первую группу вошли больные без прогрессирования бронхиальной обструкции (75 человек), во вторую – с прогрессированием бронхиальной обструкции (59 человек). Краткая характеристика пациентов из указанных групп приведена в таблице 3. Больные с прогрессирующей обструкцией отличались более старшим возрастом, увеличенным индексом курения, а также имели более тяжелое течение заболевания, что отражалось в более интенсивной симптоматике и частых обострениях.

Таблица 2

**Олигонуклеотидные последовательности и температура стадий отжига/элонгации ($T_a^{\circ}C$),
использованные для генотипирования**

Полиморфизм	Последовательности праймеров и зондов	Концентрация, мкМ	$T_a^{\circ}C$
rs10166942	прямой 5'-TACCTACTACCTAACACTTGGC-3'	0,5	64/58
	обратный 5'-TGAGCAAGGTCTGAAAGGAAGGATAGGG-3'	0,02	
	зонд 5'-FAM-CGCGTAACAAAGAGAGACAAAAGCGCG-BHQ1-3'	0,5	
rs7577262	прямой 5'-CCTCAAAAGCCCAGTTCCCTAACCTCA-3'	0,02	65/62
	обратный 5'-GTAAAGAATCAGTAAATGTGAACCACT-3'	0,5	
	зонд 5'-FAM-CTCCGAATGCAGTTCCCTCTCGGAG-BHQ1-3'	0,5	
rs11562975	прямой 5'-CCAGTACCTTATGGATGACTT-3'	0,5	62/58
	обратный 5'-GGAGCTTGCTTCGACAGTGGGAT-3'	0,02	
	зонд 5'-FAM-CGGCCAGGATATAACAGTGGAGGCCG-BHQ1-3'	0,5	
rs58514553	прямой 5'-CTTGAAAGGCACTACTGACTTTGTTCTTAT-3'	0,02	62/57
	обратный 5'-GAAATTGTTAGCAGTGATTACC-3'	0,5	
	зонд 5'-FAM-CGCGTACTCCTCTTATTATTACGCG-BHQ1-3'	0,5	
rs2052030	прямой 5'-GGAGAGATTATCTTACTGAAACAC-3'	0,5	62/58
	обратный 5'-TCACTACTGCCAGACAAAAGGAAAA-3'	0,02	
	зонд 5'-FAM-CGGCTCAAATACGACCACTGCCG - BHQ1-3	0,5	
rs17865682	прямой 5'-GAATTGTCATGTGTTGCTTTG-3'	0,5	62/60
	обратный 5'-AGAGAAGTCAGTTCATGTAACCTGGGA-3'	0,02	
	зонд 5'-CCGGAAGTGAATCTGACCGG-BHQ1-3'	0,5	

Таблица 3

Клиническо-анамнестическая и функциональная характеристика обследованного контингента

Показатель		Группа пациентов с прогрессированием бронхиальной обструкции (n=59)	Группа пациентов без прогрессирования бронхиальной обструкции (n=75)	Значимость различий (p)
Возраст, лет		63,0 (58,0; 68,0)	60,0 (55,0; 66,0)	0,06
Пол м/ж, %		89/11	82/18	0,29
Индекс массы тела, кг/м ²		25,3 (22,6; 30,7)	24,7 (22,1; 30,0)	0,66
Активные курильщики, %		64,3	78,4	0,20
Индекс курения, пачка-лет		40,0 (30,0; 50,0)	34,5 (27,0; 45,0)	0,03
Стадии ХОБЛ	GOLD II, %	23,2	52,0	0,004
	GOLD III, %	53,6	33,3	
	GOLD IV, %	23,2	14,7	
Одышка mMRC:	0 (нет), %	0	2,7	0,01
	1 (легкая), %	10,9	17,6	
	2 (средняя), %	36,4	55,4	
	3 (тяжелая), %	40,0	16,2	
	4 (очень тяжелая), %	12,7	8,1	
Оценочный тест CAT, баллы		28,0 (22,0; 29,0)	11,0 (10,0; 25,0)	<0,001
Длительность ХОБЛ, лет		10,0 (6,0; 19,0)	9,5 (4,0; 15,0)	0,15
Обострения ≥2 раз/год, %		64,2	25,7	<0,001
ОФВ ₁ , % долж.		44,3 (35,0; 60,9)	48,9 (37,8; 65,0)	0,24
дОФВ ₁ , мл/год		-230,0 (-380,0; -120,0)	10,0 (-20,0; 110,0)	<0,001

Частоты генотипов для всех исследованных полиморфизмов находились в соотношении Харди-Вайнберга. При анализе взаимосвязи носительства отдельных полиморфизмов гена *TRPM8* с прогрессирующей бронхиальной обструкцией у больных ХОБЛ было обнаружено, что rs11562975 являлся единственным полиморфизмом, который оказывал значимое влияние на изучаемый признак. Генотипы GC и CC, а также аллель С были чаще представлены в группе больных со снижением ОФВ₁ ≥50 мл/год. Различия

были статистически значимыми в общей, доминантной и мультиплективной моделях (табл. 4). В доминантной модели эффект полиморфизма оставался значимым независимо от пола, возраста, индекса курения, исходного ОФВ₁ и наличия частых обострений (ОШ 3,7 95%ДИ [1,29; 10,3], p=0,01). Также у больных с генотипами GC+CC снижение ОФВ₁ было более выраженным, по сравнению с гомозиготами GG (-120,0 [-340,0; -30,0] мл/год против -20,0 (-130,0; 40) мл/год соответственно, p=0,002).

Таблица 4

Ассоциация полиморфизма rs11562975 с наличием прогрессирующей бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ

Модель наследования	Генотипы и аллели	ХОБЛ с прогрессирующей бронхиальной обструкцией, n (%)	ХОБЛ без прогрессирующей бронхиальной обструкции, n (%)	Значимость различий (p)
Общая	GG	38 (64,4)	67 (89,3)	0,001
	GC	19 (32,2)	8 (10,7)	
	CC	2 (3,4)	0 (0)	
Доминантная	GG	38 (64,4)	67 (89,3)	<0,001
	GC+CC	21 (35,6)	8 (10,7)	
Мультиплективная	G	95 (80,5)	142 (94,7)	<0,001
	C	23 (19,5)	8 (5,3)	

Дополнительно, тенденция к ассоциации с прогрессирующей бронхиальной обструкцией была найдена для полиморфизма rs10166942 в доминантной модели. При этом носительство генотипов TC+CC чаще отмечалось в группе больных с прогрессированием ХОБЛ, по сравнению с группой без прогрессирующего снижения ОФВ₁ (40,6% против 26,7%, p=0,08). Значимых различий в динамике ОФВ₁ между носителями различных генотипов для данного полиморфизма не было обнаружено.

TRPM8 – рецепторный белок, экспрессированный на многих клетках респираторного тракта. Отличительной чертой *TRPM8* является его чувствительность к охлаждению, при этом канал активируется при 28°C и более низких температурах. Кроме этого, активирующими факторами могут служить ментол, ициллин и их различные производные. Среди эндогенных лигандов *TRPM8* идентифицированы тестостерон, артемин и белок PIRT, также состояние рецептора регулируется содержанием в плазматической мембране фосфотидилинозитол-4,5-бифосфата, что объединяет *TRPM8* с другими TRP каналами [11]. Известно, что экспрессия *TRPM8* увеличена в эпителии дыхательных путей больных ХОБЛ, что ассоциировано с повышенной продукцией муцина MUC5AC [12]. Также *TRPM8* способен опосредовать секрецию провоспалительных цитокинов клетками бронхиального эпителия при дей-

ствии охлаждения и сигаретного дыма, при этом действие обоих факторов одновременно производит синергетический эффект [13]. Нокдаун гена *TRPM8* в модели бронхиальной астмы (БА) у мышей предотвращал развитие индуцированных холодом клеточной инфильтрации и признаков ремоделирования дыхательных путей, снижая экспрессию матриксных металлопротеиназ MMP-2 и MMP-9 [14].

Полученные данные, указывающие на вовлеченность полиморфизма rs11562975 гена *TRPM8* в формирование предрасположенности к прогрессирующей бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ, представлены впервые. Тем не менее, ранее опубликованные работы подтверждают его функциональную значимость. К примеру, был обнаружен эффект данного полиморфизма на проходимость бронхов при ХОБЛ. Носители генотипов GC и CC характеризовались сниженным соотношением ОФВ₁/ФЖЕЛ, по сравнению с больными, имевшими генотип GG. Также лица с аллелем C в генотипе чаще встречались среди пациентов с ОФВ₁<60%, при этом значимость ассоциации сохранилась после коррекции на пол, возраст и индекс курения [10].

Влияние rs11562975 на вентиляционную функцию легких было продемонстрировано и у больных БА. В частности, носительство генотипа GC служило фактором предрасположенности к формированию тяжелой

бронхиальной обструкции у лиц с индексом курения более 10 пачка-лет [15]. Кроме этого, установлено, что rs11562975 является независимым фактором нарушения бронхиальной проходимости при БА. Больные с генотипами GC и CC чаще имели сниженное соотношение ОФВ₁/ФЖЕЛ, что не было опосредовано полом, возрастом, курением и другими факторами [16]. Полиморфизм оказывал влияние не только на пре-, но на постбронходилатационное значение ОФВ₁/ФЖЕЛ, что может говорить об его участии в развитии необратимой бронхиальной обструкции [17].

Помимо перечисленных эффектов на вентиляционную функцию легких, полиморфизм rs11562975 играет роль в формировании холодовой гиперреактивности дыхательных путей у больных БА. Известно, что для лиц с генотипом GC характерно более выраженное снижение ОФВ₁ в ответ на ингаляцию холодного воздуха, по сравнению с носителями GG генотипа [18]. В подтверждение этих данных выявлено, что для GC гетерозигот характерна повышенная чувствительность к низкой температуре, а также гипометаболический ответ на охлаждение, по сравнению с носителями гомозиготного GG генотипа [19, 20]. При исследовании зависимости распределения частот аллелей rs11562975 от высоты проживания над уровнем моря, установлено, что у жителей высокогорья частота С аллеля снижена, по сравнению с жителями низкогорья и среднегорья, что говорит о роли полиморфизма в холодовой адаптации [21]. Для полиморфизма rs10166942 прежде также была найдена связь с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. Больные БА, в особенности женщины, с генотипами TC и CC имели предрасположенность к холодовой гиперреактивности и в большей степени реагировали на экспериментальную холодовую гипервентиляцию [22].

Таким образом, эффект полиморфизма rs11562975 на прогрессирование бронхиальной обструкции в случае носительства С аллеля может быть обусловлен повышенной функциональной активностью или

апрегуляцией рецепторов TRPM8, прежде всего, экспрессированных на респираторном эпителии, на фоне стимуляции сигаретным дымом, низкой температурой в холодный сезон года или какими-либо эндогенными лигандами, в том числе не идентифицированными до настоящего времени. Это, в свою очередь, может сопровождаться нарастанием воспалительной реакции, гиперсекрецией и ремоделированием дыхательных путей.

Выходы

В результате проведенного исследования было впервые установлено, что носительство С аллеля (генотипы GC+CC) по полиморфизму rs11562975 гена TRPM8 является фактором риска более тяжелого течения ХОБЛ, которое характеризуется прогрессирующим снижением ОФВ₁. Полученные результаты свидетельствуют о возможной перспективе персонифицированных подходов в фармакологической модуляции TRPM8 с целью предотвращения ранней инвалидизации и смертности при ХОБЛ за счет длительного сохранения функционального статуса пациентов с данным заболеванием. Вероятно, дальнейшие исследования каналов TRPM8 смогут пролить свет на механизмы патогенеза многих хронических респираторных заболеваний, за счет чего будут способствовать разработке новых средств патогенетической терапии.

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. Fletcher C., Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction // Br. Med. J. 1977. Vol.1, Iss.6077. P.1645–1648. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.6077.1645>
2. Lundbäck B., Lindberg A., Lindström M., Rönmark E., Jonsson A.C., Jönsson E., Larsson L.G., Andersson S., Sandström T., Larsson K.; Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Studies. Not 15 but 50% of smokers develop COPD?—Report from the Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Studies // Respir. Med. 2003. Vol.97, Iss.2. P.115–122. <https://doi.org/10.1053/rmed.2003.1446>
3. Salvi S.S., Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers // Lancet. 2009. Vol.374, Iss.9691. P.733–743. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61303-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61303-9)
4. Akata K., van Eeden S.F. Lung Macrophage Functional Properties in Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Int. J. Mol. Sci. 2020. Vol.21, Iss.3. Article number: 853. <https://doi.org/10.3390/ijms21030853>
5. Milici A., Talavera K. TRP Channels as Cellular Targets of Particulate Matter // Int. J. Mol. Sci. 2021. Vol.22, Iss.5. Article number: 2783. <https://doi.org/10.3390/ijms22052783>
6. Kytikova O.Y., Novgorodtseva T.P., Denisenko Y.K., Naumov D.E., Gvozdenko T.A., Perelman J.M. Thermosensory Transient Receptor Potential Ion Channels and Asthma // Biomedicines. 2021. Vol.9, Iss.7. Article number: 816. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9070816>
7. Xing H., Ling J.X., Chen M., Johnson R.D., Tominaga M., Wang C.Y., Gu J. TRPM8 mechanism of autonomic

nerve response to cold in respiratory airway // Mol. Pain. 2008. Vol.4. Article number: 22. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-4-22>

8. Xiong M., Guo M., Huang D., Li J., Zhou Y. TRPV1 genetic polymorphisms and risk of COPD or COPD combined with PH in the Han Chinese population // Cell Cycle. 2020. Vol.19, Iss.22. P.3066–3073. <https://doi.org/10.1080/15384101.2020.1831246>

9. Zhu G.; ICGN Investigators, Gulsvik A., Bakke P., Ghatta S., Anderson W., Lomas D.A., Silverman E.K., Pillai S.G. Association of TRPV4 gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease // Hum. Mol. Genet. 2009. Vol.18, Iss.11. P.2053–2062. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp111>

10. Naumov D.E., Kotova O.O., Gassan D.A., Sugaylo I.Y., Afanas'eva E.Y., Sheludko E.G., Perelman J.M. Effect of TRPM8 and TRPA1 Polymorphisms on COPD Predisposition and Lung Function in COPD Patients // J. Pers. Med. 2021. Vol.11, Iss.2. Article number: 108. <https://doi.org/10.3390/jpm11020108>

11. González-Muñiz R., Bonache M.A., Martín-Escura C., Gómez-Monterrey I. Recent Progress in TRPM8 Modulation: An Update // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol.20, Iss.11. Article number: 2618. <https://doi.org/10.3390/ijms20112618>

12. Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism // J. Allergy Clin. Immunol. 2011. Vol.128, Iss.3. P.626–634. e1-5. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.04.032>

13. Wang J., Yang G., Li M., Zhou X. Transient Receptor Potential Melastatin 8 (TRPM8)-Based Mechanisms Underlie Both the Cold Temperature-Induced Inflammatory Reactions and the Synergistic Effect of Cigarette Smoke in Human Bronchial Epithelial (16HBE) Cells // Front. Physiol. 2019. Vol.10. Article number: 285. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00285>

14. Liu H., Liu Q., Hua L., Pan J. Inhibition of transient receptor potential melastatin 8 alleviates airway inflammation and remodeling in a murine model of asthma with cold air stimulus // Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). 2018. Vol.50, Iss.5. P.499–506. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmy033>

15. Гассан Д.А., Наумов Д.Е., Котова О.О., Приходько А.Г., Колосов В.П. Полиморфизм гена TRPM8 и курение как факторы формирования тяжелой бронхиальной обструкции у больных бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2017. Вып.65. С.24–30. EDN: ZGUGGL. https://doi.org/10.12737/article_59acaae9dad902.64338769

16. Naumov D., Gassan D., Kotova O., Prikhodko A., Perelman J., Kolosov V. TRPM8 polymorphism as an independent factor of bronchial obstruction in asthma // Eur. Respir. J. 2018. Vol.52, Suppl.62. Article number: PA1271. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2018.PA1271>

17. Naumov D., Kotova O., Gassan D., Afanaseva E., Sheludko E., Perelman J. TRPM8 polymorphism affects post-bronchodilator lung function in asthma // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2020. Vol.201. Article number: A7396. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2020.201.1_MeetingAbstracts.A7396

18. Naumov D.E., Perelman J.M., Kolosov V.P., Potapova T.A., Maksimov V.N., Zhou X. Transient receptor potential melastatin 8 gene polymorphism is associated with cold-induced airway hyperresponsiveness in bronchial asthma // Respirology. 2015. Vol.20, Iss.8. P.1192–1197. <https://doi.org/10.1111/resp.12605>

19. Козырева Т.В., Ткаченко Е.Я., Потапова Т.А., Ромашенко А.Г., Воевода М.И. Связь однокодонного полиморфизма rs11562975 гена термочувствительного ионного канала TRPM8 с чувствительностью человека к холodu и ментолу // Физиология человека. 2011. Т.37, №2. С.71–76. EDN: NSYOWN.

20. Козырева Т.В., Ткаченко Е.Я., Потапова Т.А., Воевода М.И. Реакция респираторной системы на локальное охлаждение у людей с однокодонным полиморфизмом rs11562975 гена термочувствительного ионного канала TRPM8 // Физиология человека. 2014. Т.40, №2. С.94–98. EDN: RXFOMX. <https://doi.org/10.7868/S0131164614020106>

21. Бабенко В.Н., Исакова Ж.Т., Талайбекова Э.Т., Асамбаева Да.А., Кобзев В.Ф., Потапова Т.А., Воевода М.И., Алдашев А.А. Полиморфизм гена TRPM8 в Кыргызской популяции: возможная связь с высокогорной адаптацией // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015. Т.19, №5. С.630–637. EDN: VDUBQD. <https://doi.org/10.18699/VJ15.080>

22. Naumov D., Kotova O., Gassan D., Prikhodko A., Kolosov V. Sex-dependent effect of TRPM8 rs10166942 polymorphism on cold-induced airway hyperresponsiveness in asthma // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2019. Vol.199. Article number: A3823. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1_MeetingAbstracts.A3823

REFERENCES

1. Fletcher C., Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *Br. Med. J.* 1977; 1(6077):1645–1648. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.6077.1645>
2. Lundbäck B., Lindberg A., Lindström M., Rönmark E., Jonsson A.C., Jönsson E., Larsson L.G., Andersson S., Sandström T., Larsson K.; Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Studies. Not 15 but 50% of smokers develop COPD?—Report from the Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Studies. *Respir. Med.* 2003; 97(2):115–122.

<https://doi.org/10.1053/rmed.2003.1446>

3. Salvi S.S., Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet* 2009; 374(9691):733–743. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61303-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61303-9)

4. Akata K., van Eeden S.F. Lung Macrophage Functional Properties in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(3):853. <https://doi.org/10.3390/ijms21030853>

5. Milici A., Talavera K. TRP Channels as Cellular Targets of Particulate Matter. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(5):2783. <https://doi.org/10.3390/ijms22052783>

6. Kytkova O.Y., Novgorodtseva T.P., Denisenko Y.K., Naumov D.E., Gvozdenko T.A., Perelman J.M. Thermosensory Transient Receptor Potential Ion Channels and Asthma. *Biomedicines* 2021; 9(7):816. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9070816>

7. Xing H., Ling J.X., Chen M., Johnson R.D., Tominaga M., Wang C.Y., Gu J. TRPM8 mechanism of autonomic nerve response to cold in respiratory airway. *Mol. Pain* 2008; 4:22. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-4-22>

8. Xiong M., Guo M., Huang D., Li J., Zhou Y. TRPV1 genetic polymorphisms and risk of COPD or COPD combined with PH in the Han Chinese population. *Cell Cycle* 2020; 19(22):3066–3073. <https://doi.org/10.1080/15384101.2020.1831246>

9. Zhu G.; ICGN Investigators, Gulsvik A., Bakke P., Ghatta S., Anderson W., Lomas D.A., Silverman E.K., Pillai S.G. Association of TRPV4 gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease. *Hum. Mol. Genet.* 2009; 18(11):2053–2062. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp111>

10. Naumov D.E., Kotova O.O., Gassan D.A., Sugaylo I.Y., Afanas'eva E.Y., Sheludko E.G., Perelman J.M. Effect of TRPM8 and TRPA1 Polymorphisms on COPD Predisposition and Lung Function in COPD Patients. *J. Pers. Med.* 2021; 11(2):108. <https://doi.org/10.3390/jpm11020108>

11. González-Muñiz R., Bonache M.A., Martín-Escura C., Gómez-Monterrey I. Recent Progress in TRPM8 Modulation: An Update. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20(11):2618. <https://doi.org/10.3390/ijms20112618>

12. Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin 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.e1-5. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.04.032>

13. Wang J., Yang G., Li M., Zhou X. Transient Receptor Potential Melastatin 8 (TRPM8)-Based Mechanisms Underlie Both the Cold Temperature-Induced Inflammatory Reactions and the Synergistic Effect of Cigarette Smoke in Human Bronchial Epithelial (16HBE) Cells. *Front. Physiol.* 2019; 10:285. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00285>

14. Liu H., Liu Q., Hua L., Pan J. Inhibition of transient receptor potential melastatin 8 alleviates airway inflammation and remodeling in a murine model of asthma with cold air stimulus. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)* 2018; 50(5):499–506. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmy033>

15. Gassan D.A., Naumov D.E., Kotova O.O., Prikhodko A.G., Kolosov V.P. [TRPM8 gene polymorphism and smoking as the factors of severe bronchial obstruction in patients with asthma]. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2017; (65):24–30 (in Russian). https://doi.org/10.12737/article_59acaee9dad902.64338769

16. Naumov D., Gassan D., Kotova O., Prikhodko A., Perelman J., Kolosov V. TRPM8 polymorphism as an independent factor of bronchial obstruction in asthma. *Eur. Respir. J.* 2018; 52(Suppl.62):PA1271. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2018.PA1271>

17. Naumov D., Kotova O., Gassan D., Afanaseva E., Sheludko E., Perelman J. TRPM8 polymorphism affects post-bronchodilator lung function in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2020; 201:A7396. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2020.201.1_MeetingAbstracts.A7396

18. Naumov D.E., Perelman J.M., Kolosov V.P., Potapova T.A., Maksimov V.N., Zhou X. Transient receptor potential melastatin 8 gene polymorphism is associated with cold-induced airway hyperresponsiveness in bronchial asthma. *Respirology* 2015; 20(8):1192–1197. <https://doi.org/10.1111/resp.12605>

19. Kozyreva T.V., Tkachenko E.Y., Potapova T.A., Romashchenko A.G., Voevoda M.I. Single-nucleotide polymorphism rs11562975 of the thermosensitive ion channel TRPM8 gene and human sensitivity to cold and menthol. *Hum. Physiol.* 2011; 37(2):188–192. <https://doi.org/10.1134/S0362119711020101>

20. Kozyreva T.V., Tkachenko E.Y., Potapova T.A., Voevoda M.I. Respiratory system response to local cooling in subjects with single nucleotide polymorphism rs11562975 of the TRPM8 temperature-sensitive ion channel gene. *Hum. Physiol.* 2014; 40(2):197–200. <https://doi.org/10.1134/S0362119714020108>

21. Babenko V.N., Isakova J.T., Talaibekova E.T., Asambaeva D.A., Kobzev V.F., Potapova T.A., Voevoda M.I., Aldashev A.A. Polymorphism in the TRPM8 gene in Kyrgyz population: putative association with highland adaptation. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 2015; 19(5):630–637 (in Russian). <https://doi.org/10.18699/VJ15.080>

22. Naumov D., Kotova O., Gassan D., Prikhodko A., Kolosov V. Sex-dependent effect of TRPM8 rs10166942 polymorphism on cold-induced airway hyperresponsiveness in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019; 199:A3823. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1_MeetingAbstracts.A3823

Информация об авторах:

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

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

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

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

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

Елизавета Григорьевна Шелудько, 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

Евгения Юрьевна Афанасьева, 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: evgeniyananov@yandex.ru

Поступила 12.10.2022
Принята к печати 28.10.2022

Author information:

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

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

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

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

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

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

Evgeniya Yu. Afanas'eva, PhD (Med.), Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: evgeniyananov@yandex.ru

Received October 12, 2022
Accepted October 28, 2022

УДК 616-002-008.953-092:613.84:577.29

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-24-32

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ TRP КАНАЛОВ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ МОКРОТЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ С ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ БРОНХИАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИЕЙ

Д.Е.Наумов, И.Ю.Сугайло, Д.А.Гассан, О.О.Котова, 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. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – патология, сопровождающаяся нарастающим и необратимым ухудшением проходимости дыхательных путей. Известно, что макрофаги респираторного тракта принимают активное участие в перестройке внеклеточного матрикса, приводя к развитию ремоделирования бронхов. Цель. Оценить взаимосвязь между скоростью прогрессирования бронхиальной обструкции при ХОБЛ, экспрессией TRP каналов на альвеолярных макрофагах и уровнями гуморальных маркеров воспаления в респираторном тракте. Материалы и методы. Обследовано 37 больных ХОБЛ, в том числе 23 человека со скоростью снижения ОФВ₁ ≥50 мл/год и 14 – с уменьшением ОФВ₁ <50 мл/год. Экспрессию каналов TRPV1, TRPV4, TRPA1, TRPM8 определяли на альвеолярных макрофагах методом проточной цитометрии. Анализ цитокинов выполняли в супернатанте мокроты методом мультиплексного анализа на проточном цитометре. Результаты. Установлено, что у больных с прогрессирующей бронхиальной обструкцией экспрессия TRPV4 была достоверно увеличена: 14,2 (10,8; 23,4)% против 8,6 (3,6; 15,4)% ($p=0,03$). Кроме этого, в общей группе пациентов была выявлена высокозначимая обратная корреляция между величиной экспрессии TRPV4 и динамикой ОФВ₁ ($r=-0,52$, $p<0,001$). Пациенты со снижением ОФВ1 ≥50 мл/год характеризовались значимым увеличением уровней IL-2, IL-4, IL-17A, IL-10, IL-12p70, CXCL10 и MCP-1. Дополнительно мы обнаружили, что концентрации некоторых цитокинов были прямо взаимосвязаны с экспрессией TRPV4 на макрофагах: IL-4 ($p=0,51$, $p=0,001$), CXCL10 ($p=0,59$, $p<0,001$), MCP-1 ($p=0,56$, $p<0,001$), TGF-β1 ($p=0,42$, $p=0,009$), IFN-γ ($p=0,37$, $p=0,02$). Заключение. Каналы TRPV4, экспрессированные на альвеолярных макрофагах, вовлечены в воспалительный процесс и ремоделирование дыхательных путей при ХОБЛ, что проявляется взаимосвязями с уровнем продукции ряда цитокинов, а также скоростью прогрессирования бронхиальной обструкции.

Ключевые слова: макрофаги, ХОБЛ, курение, TRPV1, TRPV4, TRPM8, TRPA1, воспаление, бронхиальная обструкция.

PECULIARITIES OF TRP CHANNELS EXPRESSION AND CYTOKINE PROFILE OF SPUTUM IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE AND PROGRESSIVE BRONCHIAL OBSTRUCTION

D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, D.A.Gassan, O.O.Kotova, 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. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a pathology accompanied by a progressive and irreversible deterioration in airway patency. It is known that macrophages of the respiratory tract are actively involved in the reorganization of the extracellular matrix leading to the development of bronchial remodeling. Aim. To

Контактная информация

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатории 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: denn1985@bk.ru

Correspondence should be addressed to

Denis E. Naumov, PhD (Med.), Head of Laboratory, 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: denn1985@bk.ru

Для цитирования:

Наумов Д.Е., Сугайло И.Ю., Гассан Д.А., Котова О.О., Горчакова Я.Г., Шелудько Е.Г. Особенности экспрессии TRP каналов и цитокиновый профиль мокроты у больных хронической обструктивной болезнью легких с прогрессирующей бронхиальной обструкцией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.24–32. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-24-32

For citation:

Naumov D.E., Sugaylo I.Yu., Gassan D.A., Kotova O.O., Gorchakova Y.G., Sheludko E.G. Peculiarities of TRP channels expression and cytokine profile of sputum in patients with chronic obstructive pulmonary disease and progressive bronchial obstruction. *Bületeren'fiziologii i patologii dyhaniā* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):24–32 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-24-32

assess the relationship between the progression rate of bronchial obstruction in COPD, the expression of TRP channels on alveolar macrophages, and the levels of inflammatory markers in the respiratory tract. **Materials and methods.** The study enrolled 37 patients with COPD, including 23 people with a FEV₁ deterioration \geq 50 ml/year and 14 with FEV₁ decline $<$ 50 ml/year. The expression of TRPV1, TRPV4, TRPA1, TRPM8 channels was determined on alveolar macrophages by flow cytometry. Analysis of cytokines was performed in sputum supernatant by multiplex assay on a flow cytometer. **Results.** It was found that in patients with progressive bronchial obstruction TRPV4 expression was significantly increased: 14.2 (10.8; 23.4)% vs. 8.6 (3.6; 15.4)% ($p=0.03$). In addition, in the general group of patients a highly significant inverse correlation was found between TRPV4 expression and the dynamics of FEV₁ ($\rho=-0.52$, $p<0.001$). Patients with a decrease in FEV₁ \geq 50 ml/year were characterized by significantly elevated levels of IL-2, IL-4, IL-17A, IL-10, IL-12p70, CXCL10 and MCP-1. Additionally, we found that concentrations of several cytokines were directly correlated with TRPV4 expression on macrophages: IL-4 ($\rho=0.51$, $p=0.001$), CXCL10 ($\rho=0.59$, $p<0.001$), MCP-1 ($\rho=0.56$, $p<0.001$), TGF- β 1 ($\rho=0.42$, $p=0.009$), IFN- γ ($\rho=0.37$, $p=0.02$). **Conclusion.** TRPV4 channels expressed on alveolar macrophages are involved in the inflammatory process and airway remodeling in COPD, which is manifested by their relationships with the level of certain cytokines production, as well as the rate of the progression of bronchial obstruction.

Key words: *macrophages, COPD, smoking, TRPV1, TRPV4, TRPM8, TRPA1, inflammation, bronchial obstruction.*

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – распространенное заболевание с высокой смертностью и социально-экономическим бременем. Прямые затраты здравоохранения, ассоциированные с ХОБЛ, в странах Европы в среднем составляют 6182 евро в год на одного больного, в азиатских странах – 9172 долларов, а в США – 9981 долларов [1]. Ключевым признаком ХОБЛ является прогрессирующее снижение бронхиальной проходимости с формированием не полностью обратимой бронхиальной обструкции. Несмотря на исходное предположение об ускорении темпов снижения бронхиальной проходимости по мере увеличения тяжести ХОБЛ, более поздние научные работы показали, что это не так. По результатам анализа более 10 продольных исследований установлено, что среди пациентов со стадией II снижение ОФВ₁ составляло 47-79 мл/год, со стадией III – 56-59 мл/год, а у больных с IV стадией ХОБЛ было минимальным (<35 мл/год). Таким образом, видно, что отрицательная динамика ОФВ₁ по мере нарастания бронхиальной обструкции, напротив, замедляется [2]. Факторы, ассоциированные с ускоренным снижением показателей проходимости дыхательных путей при ХОБЛ, включают старший возраст, высокий социально-экономический статус, низкую массу тела, выраженную одышку, тяжелые или частые обострения, а также курение, прием ингаляционных глюкокортикоидов и невысокую степень бронхиальной обструкции [3]. Было отмечено, что даже единичное обострение ХОБЛ способно приводить к существенному ускорению темпов снижения ОФВ₁ (в среднем на 37,5 мл/год) [4]. Влияние курения на скорость прогрессирования бронхиальной обструкции более подробно было исследовано A.Y.Leem et al. Анализ, проведенный среди лиц мужского пола, установил, что наиболее быстрое ухудшение бронхиальной проходимости наступает у активных курильщиков без признаков бронхиальной обструкции (40,1 мл/год), за ними следуют здоровые лица, бросившие курить (35,5 мл/год), курильщики с бронхиальной обструкцией (33,9 мл/год), и наконец, здоровые, никогда не курившие лица (31,8 мл/год) и больные обструктивной патологией, бросившие курить (19,7 мл/год) [5].

Схожие данные относительно темпов снижения вентиляционной функции легких с возрастом были получены E.T.Thomas et al. У лиц, не страдающих ХОБЛ, снижение ОФВ₁ составляет от 17,7 до 46,4 мл/год (медианное значение – 22,4 мл/год), при этом у мужчин оно происходит быстрее, чем у женщин (43,5 мл/год против 30,5 мл/год соответственно) [6]. В корейской популяции среди здоровых мужчин снижение ОФВ₁ также было более выраженным, по сравнению с женщинами (31,3 [28,5-34,1] мл/год против 27,0 [25,9-28,1] мл/год) [5]. Непосредственное сравнение темпов снижения ОФВ₁ между больными ХОБЛ и здоровыми лицами старше 60 лет, проведенное A.Rosso et al. также убедительно демонстрирует отличие в скорости нарастания бронхиальной обструкции при ХОБЛ. У больных лиц годовое снижение ОФВ₁ в среднем находилось на уровне 66,3 95%ДИ (56,4-76,3) мл и было значительно выше по отношению к контрольной группе (43,3 95%ДИ [41,2-45,5] мл) [7]. Несмотря на то, что определенные фармакотерапевтические возможности влиять на прогрессирование ХОБЛ имеются, они остаются довольно ограниченными. По данным систематического обзора нескольких крупных исследований, назначение современных препаратов (длительно действующие β 2-агонисты, холинолитики и ингаляционные глюкокортикоиды) приводило к уменьшению отрицательной динамики ОФВ₁ в среднем лишь на 5 95%ДИ (0,8-9,1) мл/год, по сравнению с плацебо [8]. Таким образом, актуальным остается вопрос поиска новых фармакологических мишеней и разработки более эффективных подходов к лекарственной терапии данного заболевания.

Макрофаги являются клетками иммунной системы, которые наиболее распространены в респираторном тракте. Выполняя функции фагоцитоза, эфферицитоза, а также секретируя различные цитокины, оказывающие эффект на функциональную активность других лейкоцитов, данные клетки существенным образом влияют на течение воспалительного процесса и ремоделирование дыхательных путей при ХОБЛ [9]. Ранее нами были изучены особенности экспрессии четырех основных каналов с транзиторным рецепторным по-

тенциалом (TRP), чувствительных к сигаретному дыму и пылевым частицам – основным этиологическим факторам заболевания, на макрофагах при ХОБЛ, и установлено преобладание экспрессии TRPV1 на клетках больных лиц [10]. Целью настоящего исследования являлась оценка взаимосвязей между скоростью прогрессирования бронхиальной обструкции при ХОБЛ, экспрессией TRP каналов на альвеолярных макрофагах и уровнями гуморальных маркеров воспаления в респираторном тракте.

Материалы и методы исследования

Исследования 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 были включены 37 больных ХОБЛ с различной степенью вентиляционных нарушений. Для выявления степени бронхиальной обструкции и скорости ее прогрессирования всем лицам дважды, с интервалом один год, проводили спирометрию на аппарате Easy on-PC (nddMedizintechnik AG, Швейцария) с определением основных параметров кривой поток-объем форсированного выдоха, в том числе объема форсированного выдоха за 1-ю сек (ОФВ₁). С целью оценки динамики бронхиальной проходимости определяли разницу между полученными значениями ОФВ₁ в миллилитрах ($\Delta\text{O}\text{F}\text{B}_1$). Все измерения выполняли вне обострения заболевания на фоне действия бронхолитика для определения необратимого компонента бронхиальной обструкции. Средний возраст больных составил $57,8 \pm 1,83$ лет, индекс курения – $36,6 \pm 2,50$ пачка-лет, преобладали пациенты с тяжелой бронхиальной обструкцией (GOLD stage III – 51,3%). Спонтанно продуцируемую мокроту собирали в стерильные контейнеры, взвешивали, добавляли двухкратный объем 0,1% дитиотреитола и инкубировали при 4°C в течение 20 мин. После окончания инкубации образец фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 45 мкм, центрифугировали при 400 g в течение 5 мин, отбирали и замораживали супернатант для последующего анализа, а клеточный осадок однократно отмывали фосфатно-солевым буфером и ресусцинировали в этом же буфере.

Уровень экспрессии TRP каналов на альвеолярных макрофагах определяли с помощью непрямой проточной цитометрии на аппарате FACS Canto II (Becton

Dickinson, США). Лейкоциты мокроты определяли по положительной окраске антителами к CD45-APC-H7 (Becton Dickinson, США). Макрофаги гейтировали как CD45+ популяцию клеток, обладающую характерной аутофлуоресценцией в каналах FITC и PE. С целью оценки экспрессии каналов TRP клетки инкубировали с первичными кроличьими поликлональными антителами к TRPA1, TRPM8, TRPV1, TRPV4 (Alomone Labs, Израиль) или изотопическими антителами в эквивалентной концентрации, а затем с вторичными антителами к IgG кролика, конъюгированными с Alexa Fluor 647 (Abcam, Великобритания). Детекцию TRPV1 проводили внутриклеточно, пермеабилизируя клетки с 0,2% Tween 20 в течение 15 мин. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью красителя LIVE/DEAD (Invitrogen, США). Величину экспрессии TRP определяли по сравнению с изотипическим контролем и выражали в виде процента положительно окрашенных клеток.

Концентрации цитокинов IL-4, IL-2, CXCL10, IL-1β, TNF-α, MCP-1, IL-17A, IL-6, IL-10, IFN-γ, IL-12p70, IL-8, TGF-β1 в мокроте определяли с помощью мультиплексного анализа коммерческими наборами LEGENDplex (BioLegend, США) на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (Becton Dickinson, США). Полученные концентрации умножали на фактор разведения для вычисления истинной концентрации цитокинов в исходном образце.

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 (Q1; Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью t критерия или критерия U Манна-Уитни, в зависимости от нормальности распределения переменных. Поиск взаимосвязи между количественными переменными проводили с использованием рангового корреляционного анализа Спирмена. Ассоциации для качественных переменных оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. В качестве критического уровня значимости принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Принимая 50 мл/год в качестве граничного значения скорости снижения ОФВ₁, все обследованные пациенты были разделены на две группы. В первую группу вошли лица с прогрессирующей бронхиальной обструкцией (23 человека с $\Delta\text{O}\text{F}\text{B}_1 \geq 50$ мл/год), а во вторую – без прогрессирующей обструкции (14 человек с $\Delta\text{O}\text{F}\text{B}_1 < 50$ мл/год). Краткая сравнительная характеристика групп пациентов по основным клинико-функциональным параметрам приведена в таблице. Больные с прогрессирующей обструкцией отличались более высоким исходным ОФВ₁ и наличием частых обострений заболевания.

Таблица

Сравнительная клинико-функциональная характеристика больных ХОБЛ

Показатель	Группа 1 (n=32)	Группа 2 (n=14)	Значимость различий (р)
Возраст, лет	59,3±2,34	55,4±2,93	0,31
Мужской пол, %	78,2	85,7	0,57
Индекс массы тела, кг/м ²	26,9±1,32	26,2±1,53	0,40
Индекс курения, пачка-лет	39,8±3,39	30,9±2,86	0,09
ОФВ ₁ исх., %	49,8±3,71	36,6±3,81	0,02
ΔОФВ ₁ , мл/год	-130 (-240; -90)	48,5 (-20; 120)	<0,001
Обострения ≥2 в год, %	82,6	28,6	0,001

Макрофаги пациентов с прогрессирующей бронхиальной обструкцией отличались более высокими медианными значениями экспрессии всех исследованных TRP каналов, однако статистически значимое увеличение экспрессии было найдено только для TRPV4 (рис. 1). Число экспрессирующих его клеток составляло 14,2

(10,8; 23,4)% против 8,6 (3,6; 15,4)% в группах с наличием и отсутствием прогрессирующей бронхиальной обструкции соответственно ($p=0,03$). Кроме этого, в общей группе пациентов была выявлена высокозначимая обратная корреляция между величиной экспрессии TRPV4 и $\Delta\text{O}\text{F}\text{B}_1$ ($p=-0,52$, $p<0,001$).

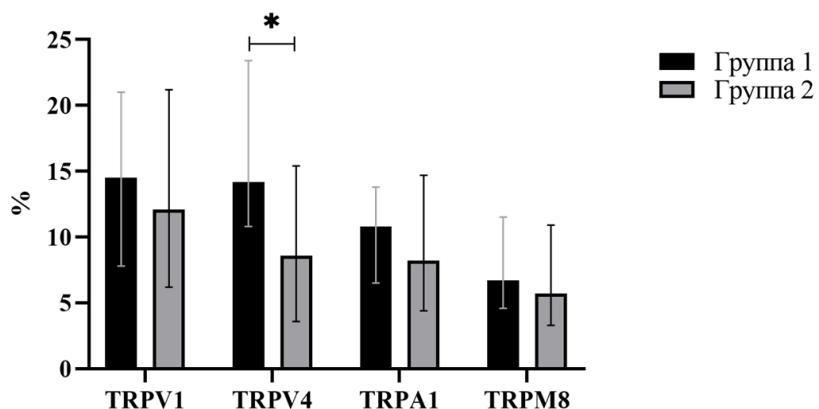


Рис. 1. Экспрессия каналов TRPV1, TRPV4, TRPA1 и TRPM8 на альвеолярных макрофагах больных ХОБЛ с наличием (группа 1) и отсутствием (группа 2) прогрессирующей бронхиальной обструкции. Значимость различий: * – $p \leq 0,05$.

При анализе цитокинового профиля мокроты было установлено, что больные ХОБЛ с прогрессирующей бронхиальной обструкцией в целом демонстрируют более высокие значения воспалительных медиаторов (рис 2). Тем не менее, статистически значимые различия были выявлены только для IL-2 (4,1 [1,4; 5,5] пг/мл против 0,1 [0; 2,8] пг/мл, $p=0,002$), IL-17A (4,1 [1,5; 9,2] пг/мл против 0,1 [0; 2,8] пг/мл, $p=0,005$), IL-4 (46,4 [20,9; 89,0] пг/мл против 20,9 [12,4; 37,9] пг/мл, $p=0,02$), IL-10 (46,8 [36,8; 52,7] пг/мл против 30,8 [18,6; 48,8] пг/мл, $p=0,02$), IL-12p70 (70,7 [47,3; 76,8] пг/мл против 47,3 [24,5; 58,3] пг/мл, $p=0,01$), CXCL10 (50,6 [22,9; 86,9] пг/мл против 17,3 [11,1; 46,4] пг/мл, $p=0,04$) и MCP-1 (75,7 [25,7; 140,7] против 22,3 [0; 49,8] пг/мл,

$p=0,03$). Корреляционный анализ позволил установить взаимосвязи с динамикой ОФВ₁ для следующих цитокинов: IL-2 ($\rho=-0,62$, $p<0,001$), IL-4 ($\rho=-0,54$, $p<0,001$), IL-17A ($\rho=-0,45$, $p=0,005$), MCP-1 ($\rho=-0,43$, $p=0,008$), IFN-γ ($\rho=-0,42$, $p=0,009$), IL-10 ($\rho=-0,41$, $p=0,01$), IL-12p70 ($\rho=-0,35$, $p=0,03$), CXCL10 ($\rho=-0,40$, $p=0,01$) и TGF-β1 ($\rho=-0,33$, $p=0,04$).

Дополнительно мы обнаружили, что уровни некоторых медиаторов были прямо взаимосвязаны с экспрессией канала TRPV4 на макрофагах: IL-4 ($\rho=0,51$, $p=0,001$), CXCL10 ($\rho=0,59$, $p<0,001$), MCP-1 ($\rho=0,56$, $p<0,001$), TGF-β1 ($\rho=0,42$, $p=0,009$), IFN-γ ($\rho=0,37$, $p=0,02$).

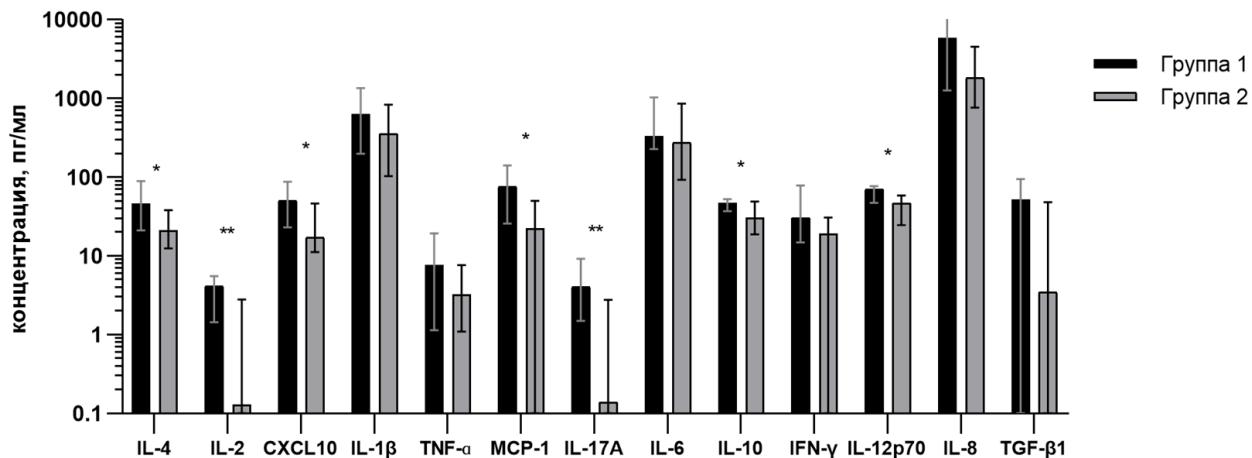


Рис. 2. Концентрации цитокинов в мокроте обследованных больных ХОБЛ в зависимости от наличия прогрессирующей бронхиальной обструкции. Значимость различий: * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$.

В настоящем исследовании был впервые затронут вопрос особенностей экспрессии каналов TRP на макрофагах больных ХОБЛ в зависимости от скорости прогрессирования бронхиальной обструкции. Канал TRPV4, увеличенная экспрессия которого была найдена у пациентов с прогрессирующими снижением ОФВ₁, представляет собой тетramerный рецепторный белок, способный активироваться различными физическими и химическими факторами, среди которых низкое осмотическое давление, температура (около 27°C и выше), жирные кислоты – арахидоновая и эпоксизикозатриеноевые, эндоканнабиноиды – анандамид и 2-арахидонил-глициерол [11].

Важным стимулом, активирующим TRPV4, также является механический фактор, действие которого, прежде всего, обусловлено жесткостью внеклеточного матрикса, которая, в свою очередь, преимущественно регулируется относительной интенсивностью процессов образования и деструкции коллагена [11]. Ранее неоднократно демонстрировалось, что жесткость матрикса может различным образом влиять на состояние поляризации макрофагов, обуславливая формирование провоспалительного или противовоспалительного фенотипа клеток. К сожалению, данные, указывающие, как именно фенотип макрофагов зависит от жесткости субстрата, на котором производится культивирование, остаются противоречивыми [12, 13]. Кроме этого, TRPV4, экспрессированный на макрофагах, выполняет важную роль в регуляции скорости ремоделирования соединительной ткани. Так, известно, что активация канала приводит к увеличению продукции металлопротеиназ, но с другой стороны, в присутствии TGF-β1, TRPV4, напротив, подавляет деградацию внеклеточного матрикса [14]. При этом блокирование TRPV4 на кератиноцитах предотвращает развитие эпителиально-мезенхимального перехода под влиянием TGF-β1 и механического стимула [15]. Существует и обратная взаимосвязь между ремоделированием и TRPV4: данные R.Goswami et al.

свидетельствуют, что повышенная жесткость внеклеточного матрикса может влиять на экспрессию TRPV4, увеличивая число рецепторов в плазматической мембране клеток [16]. Таким образом, обнаруженное нами увеличение экспрессии TRPV4 на макрофагах больных ХОБЛ с прогрессирующей обструкцией в целом закономерно, поскольку указывает на более выраженную перестройку соединительной ткани у данных пациентов. Тем не менее, предположить, как именно активность канала на макрофагах влияет на процессы образования и разрушения коллагена в настоящий момент сложно, что обусловлено известной двойственностью функций TRPV4 в данном аспекте. Также, довольно комплексными и неоднородными являются и сами процессы структурной перестройки внеклеточного матрикса при ХОБЛ. Например, в мелких дыхательных путях его жесткость нарастает, в эмфизематозно измененной паренхиме легких она снижается, а в пока еще здоровых альвеолярных стенках остается практически неизмененной по сравнению со здоровыми людьми [17].

Обнаруженные в ходе исследования особенности цитокинового профиля свидетельствуют, что высокие темпы снижения вентиляционной функции легких прежде всего взаимосвязаны с уровнем интерлейкинов IL-2, IL-4 и IL-17A. Интересно, что данные медиаторы являются ключевыми для дифференцировки Т-клеток в различные фенотипы и могут служить маркерами соответствующего типа воспалительной реакции: Th1 (IL-2), Th2 (IL-4) и Th17 (IL-17A). Данные об увеличенной продукции данных цитокинов при ХОБЛ и их важной роли в патогенезе заболевания встречались и ранее [18]. Более того, уровни IL-2, IFN-γ, IL-4, IL-10, IL-17 были выше у больных ХОБЛ при обострении, по сравнению со случаями стабильного течения заболевания. Авторы также зафиксировали, что обострение ХОБЛ ассоциировано с относительным снижением соотношения Th1/Th2 цитокинов [19]. В нашем случае все больные ХОБЛ были обследованы вне обострения,

хотя для пациентов с прогрессирующей бронхиальной обструкцией действительно были характерны более частые обострения в анамнезе. Мы не исключаем, что концентрации IL-2, IL-4 и IL-17A не только возрастают на фоне обострений, но и могут поддерживаться на высоком уровне в течение длительного времени после их купирования, что опосредует пролонгированный эффект обострений на динамику снижения ОФВ₁.

Патогенетически обоснованной представляется выявленная ассоциация IL-17A с прогрессированием бронхиальной обструкции. Данный интерлейкин является индуктором нейтрофильного воспаления, в том числе за счет увеличения экспрессии IL-8 макрофагами и эпителиальными клетками, а также тесно вовлечен в процессы ремоделирования дыхательных путей с участием TGF-β1. Интересно, что выявленное у больных с прогрессирующей бронхиальной обструкцией увеличение IL-4 также может быть опосредовано влиянием IL-17A. В частности, экспериментальная стимуляция клеток бронхиального эпителия IL-17A приводила к росту продукции тимусного стромального лимфопоэтина (TSLP), который известен своей способностью вызывать дифференцировку Т-клеток по Th2 типу с секрецией соответствующих интерлейкинов, в том числе IL-4 [20]. Важным фактором представляется наличие синергетического эффекта между IL-17A, IL-4 и TGF-β1 в индукции эпителиально-мезенхимального перехода в клетках респираторного эпителия [21]. При этом доказано, что данная трансформация является одной из ключевых причин развития фиброза и ремоделирования дыхательных путей при ХОБЛ [22].

Обращает на себя внимание тот факт, что TRPV4 был ассоциирован не только с темпами прогрессирования ХОБЛ, но и с продукцией некоторых цитокинов. Помимо упомянутых IL-4 и TGF-β1, экспрессия TRPV4 была значимо взаимосвязана с концентрациями CXCL10 и MCP-1 в мокроте. О патологической роли данных хемокинов при ХОБЛ прежде уже сообщали H.Jing et al. и A.Di Stefano et al. Так, блокирование CXCL10 предотвращает развитие ХОБЛ под действием сигаретного дыма у мышей [23], а уровень MCP-1 увеличен в плазме больных ХОБЛ с эмфизематозной, но не бронхитической формой заболевания [24].

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют, что TRPV4 вовлечен в воспалительный процесс и ремоде-

лирование дыхательных путей при ХОБЛ, что проявляется его взаимосвязями с уровнем продукции ряда воспалительных медиаторов, а также скоростью прогрессирования бронхиальной обструкции. Было впервые продемонстрировано, что для больных с прогрессирующим снижением ОФВ₁ (≥ 50 мл/год) характерна более высокая экспрессия TRPV4 на альвеолярных макрофагах, по сравнению с теми пациентами, у которых скорость прогрессирования не превышает 50 мл/год. Учитывая полимодальность в отношении активирующих стимулов, TRPV4 продолжает оставаться патогенетическим звеном ХОБЛ даже в случае, когда первичные этиологические факторы (дым, пылевые частицы) прекратили свое воздействие. По-видимому, в этом случае основную роль в поддержании патологического сигналинга TRPV4 начинают играть биофизические свойства внеклеточного матрикса, а также эндогенные агонисты данного катионного канала. Основной проблемой на пути к дальнейшей более детальной характеристике механизмов, за счет которых активация TRPV4 приводит к ускоренному ремоделированию и нарастанию бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ, является сложность экспериментального воспроизведения всего множества условий и факторов, характерных для патологического процесса *in vivo*. Опыт прежде выполненных работ по данному направлению свидетельствует о том, что важно учитывать состав и жесткость внеклеточного матрикса, возможность взаимодействия клеток различных типов, гуморальный фон, обусловленный особенностями цитокинового паттерна. В этом аспекте наиболее перспективным может быть проведение исследований на моделях *ex vivo*, в том числе, с использованием децеллюляризованных матриксов, биологических сред и клеток, полученных из респираторного тракта больных лиц.

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. Gutiérrez Villegas C., Paz-Zulueta M., Herrero-Montes M., Parás-Bravo P., Madrazo Pérez M. Cost analysis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a systematic review // Health Econ. Rev. 2021. Vol.11, Iss.1. Article number: 31. <https://doi.org/10.1186/s13561-021-00329-9>
2. Tantucci C., Modina D. Lung function decline in COPD // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. 2012. Vol.7. P.95–99. <https://doi.org/10.2147/COPD.S27480>
3. Whittaker H.R., Pimenta J.M., Jarvis D., Kiddie S.J., Quint J.K. Characteristics Associated with Accelerated Lung Function Decline in a Primary Care Population with Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. 2020. Vol.15. P.3079–3091. <https://doi.org/10.2147/COPD.S278981>

4. Halpin D.M.G., Decramer M., Celli B.R., Mueller A., Metzdorf N., Tashkin D.P. Effect of a single exacerbation on decline in lung function in COPD // *Respir. Med.* 2017. Vol.128. P.85–91. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2017.04.013>
5. Leem A.Y., Park B., Kim Y.S., Chang J., Won S., Jung J.Y. Longitudinal decline in lung function: a community-based cohort study in Korea // *Sci. Rep.* 2019. Vol.9, Iss.1. Article number: 13614. doi: 10.1038/s41598-019-49598-9
6. Thomas E.T., Guppy M., Straus S.E., Bell K.J.L., Glasziou P. Rate of normal lung function decline in ageing adults: a systematic review of prospective cohort studies // *BMJ Open.* 2019. Vol.9, Iss.6. Article number: e028150. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-028150>
7. Rosso A., Egervall K., Elmstahl S. Annual decline rate in FEV1s in community-dwelling older adults diagnosed with mild to moderate COPD // *NPJ Prim. Care Respir. Med.* 2022. Vol.32, Iss.1. Article number: 30. <https://doi.org/10.1038/s41533-022-00292-w>
8. Celli B.R., Anderson J.A., Cowans N.J., Crim C., Hartley B.F., Martinez F.J., Morris A.N., Quasny H., Yates J., Vestbo J., Calverley P.M.A. Pharmacotherapy and Lung Function Decline in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. A Systematic Review // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2021. Vol.203, Iss.6. P.689–698. <https://doi.org/10.1164/rccm.202005-1854OC>
9. Wu J., Zhao X., Xiao C., Xiong G., Ye X., Li L., Fang Y., Chen H., Yang W., Du X. The role of lung macrophages in chronic obstructive pulmonary disease // *Respir. Med.* 2022. Vol.205. Article number: 107035. doi: 10.1016/j.rmed.2022.107035
10. Наумов Д.Е., Сугайло И.Ю., Котова О.О., Гассан Д.А., Горчакова Я.Г., Малыцева Т.А. Сравнительная характеристика уровней экспрессии TRP каналов на макрофагах больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.85. С.37–46. EDN: SGGIYV. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2022-85-37-46>
11. Nguyen T.N., Siddiqui G., Veldhuis N.A., Poole D.P. Diverse Roles of TRPV4 in Macrophages: A Need for Unbiased Profiling // *Front. Immunol.* 2022. Vol.12. Article number: 828115. doi: 10.3389/fimmu.2021.828115
12. Sridharan R., Cavanagh B., Cameron A.R., Kelly D.J., O'Brien F.J. Material stiffness influences the polarization state, function and migration mode of macrophages // *Acta Biomater.* 2019. Vol.89. P.47–59. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.02.048>
13. Chen M., Zhang Y., Zhou P., Liu X., Zhao H., Zhou X., Gu Q., Li B., Zhu X., Shi Q. Substrate stiffness modulates bone marrow-derived macrophage polarization through NF-κB signaling pathway // *Bioact. Mater.* 2020. Vol.5, Iss.4. P.880–890. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.05.004>
14. Ji C., McCulloch C.A. TRPV4 integrates matrix mechanosensing with Ca²⁺ signaling to regulate extracellular matrix remodeling // *FEBS J.* 2021. Vol.288, Iss.20. P.5867–5887. <https://doi.org/10.1111/febs.15665>
15. Sharma S., Goswami R., Zhang D.X., Rahaman S.O. TRPV4 regulates matrix stiffness and TGFβ1-induced epithelial-mesenchymal transition // *J. Cell. Mol. Med.* 2019. Vol.23, Iss.2. P.761–774. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13972>
16. Goswami R., Merth M., Sharma S., Alharbi M.O., Aranda-Espinoza H., Zhu X., Rahaman S.O. TRPV4 calcium-permeable channel is a novel regulator of oxidized LDL-induced macrophage foam cell formation // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. Vol.110. P.142–150. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.06.004>
17. Burgess J.K., Harmsen M.C. Chronic lung diseases: entangled in extracellular matrix // *Eur. Respir. Rev.* 2022. Vol.31, Iss.163. Article number: 210202. <https://doi.org/10.1183/16000617.0202-2021>
18. Barnes P.J. The cytokine network in chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2009. Vol.41, Iss.6. P.631–638. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0220TR>
19. Wei B., Sheng Li C. Changes in Th1/Th2-producing cytokines during acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease // *J. Int. Med. Res.* 2018. Vol.46, Iss.9. P.3890–3902. <https://doi.org/10.1177/0300060518781642>
20. Liu M., Wu K., Lin J., Xie Q., Liu Y., Huang Y., Zeng J., Yang Z., Wang Y., Dong S., Deng W., Yang M., Wu S., Jiang W., Li X. Emerging Biological Functions of IL-17A: A New Target in Chronic Obstructive Pulmonary Disease? // *Front. Pharmacol.* 2021. Vol.12. Article number: 695957. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.695957>
21. Ji X., Li J., Xu L., Wang W., Luo M., Luo S., Ma L., Li K., Gong S., He L., Zhang Z., Yang P., Zhou Z., Xiang X., Wang C.Y. IL4 and IL-17A provide a Th2/Th17-polarized inflammatory milieu in favor of TGF-β1 to induce bronchial epithelial-mesenchymal transition (EMT) // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2013. Vol.6, Iss.8. P.1481–1492. PMID: 23923066; PMCID: PMC3726963.
22. Su X., Wu W., Zhu Z., Lin X., Zeng Y. The effects of epithelial-mesenchymal transitions in COPD induced by cigarette smoke: an update // *Respir. Res.* 2022. Vol.23, Iss.1. Article number: 225. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02153-z>
23. Jing H., Liu L., Zhou J., Yao H. Inhibition of C-X-C Motif Chemokine 10 (CXCL10) Protects Mice from Cigarette Smoke-Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Med. Sci. Monit.* 2018. Vol.24. P.5748–5753. <https://doi.org/10.12659/MSM.909864>
24. Di Stefano A., Coccini T., Roda E., Signorini C., Balbi B., Brunetti G., Ceriana P. Blood MCP-1 levels are increased in chronic obstructive pulmonary disease patients with prevalent emphysema // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018.

Vol.13. P.1691–1700. <https://doi.org/10.2147/COPD.S159915>

REFERENCES

1. Gutiérrez Villegas C., Paz-Zulueta M., Herrero-Montes M., Parás-Bravo P., Madrazo Pérez M. Cost analysis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a systematic review. *Health Econ. Rev.* 2021; 11(1):31. <https://doi.org/10.1186/s13561-021-00329-9>
2. Tantucci C., Modina D. Lung function decline in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2012; 7:95–99. <https://doi.org/10.2147/COPD.S27480>
3. Whittaker H.R., Pimenta J.M., Jarvis D., Kiddie S.J., Quint J.K. Characteristics Associated with Accelerated Lung Function Decline in a Primary Care Population with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2020; 15:3079–3091. <https://doi.org/10.2147/COPD.S278981>
4. Halpin D.M.G., Decramer M., Celli B.R., Mueller A., Metzdorf N., Tashkin D.P. Effect of a single exacerbation on decline in lung function in COPD. *Respir. Med.* 2017; 128:85–91. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2017.04.013>
5. Leem A.Y., Park B., Kim Y.S., Chang J., Won S., Jung J.Y. Longitudinal decline in lung function: a community-based cohort study in Korea. *Sci. Rep.* 2019; 9(1):13614. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49598-9>
6. Thomas E.T., Guppy M., Straus S.E., Bell K.J.L., Glasziou P. Rate of normal lung function decline in ageing adults: a systematic review of prospective cohort studies. *BMJ Open* 2019; 9(6):e028150. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-028150>
7. Rosso A., Egervall K., Elmståhl S. Annual decline rate in FEV1s in community-dwelling older adults diagnosed with mild to moderate COPD. *NPJ Prim. Care Respir. Med.* 2022; 32(1):30. <https://doi.org/10.1038/s41533-022-00292-w>
8. Celli B.R., Anderson J.A., Cowans N.J., Crim C., Hartley B.F., Martinez F.J., Morris A.N., Quasny H., Yates J., Vestbo J., Calverley P.M.A. Pharmacotherapy and Lung Function Decline in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. A Systematic Review. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2021; 203(6):689–698. <https://doi.org/10.1164/rccm.202005-1854OC>
9. Wu J., Zhao X., Xiao C., Xiong G., Ye X., Li L., Fang Y., Chen H., Yang W., Du X. The role of lung macrophages in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.* 2022; 205:107035. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2022.107035>
10. Naumov D.E., Sugaylo I.Yu., Kotova O.O., Gassan D.A., Gorchakova Y.G., Maltseva T.A. [Comparative characteristics of TRP channels expression levels on the macrophages of patients with chronic obstructive pulmonary disease]. *Bülleten'fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (85):37–46 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2022-85-37-46>
11. Nguyen T.N., Siddiqui G., Veldhuis N.A., Poole D.P. Diverse Roles of TRPV4 in Macrophages: A Need for Unbiased Profiling. *Front. Immunol.* 2022; 12:828115. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.828115>
12. Sridharan R., Cavanagh B., Cameron A.R., Kelly D.J., O'Brien F.J. Material stiffness influences the polarization state, function and migration mode of macrophages. *Acta Biomater.* 2019; 89:47–59. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.02.048>
13. Chen M., Zhang Y., Zhou P., Liu X., Zhao H., Zhou X., Gu Q., Li B., Zhu X., Shi Q. Substrate stiffness modulates bone marrow-derived macrophage polarization through NF-κB signaling pathway. *Bioact. Mater.* 2020; 5(4):880–890. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.05.004>
14. Ji C., McCulloch C.A. TRPV4 integrates matrix mechanosensing with Ca^{2+} signaling to regulate extracellular matrix remodeling. *FEBS J.* 2021; 288(20):5867–5887. <https://doi.org/10.1111/febs.15665>
15. Sharma S., Goswami R., Zhang D.X., Rahaman S.O. TRPV4 regulates matrix stiffness and TGF β 1-induced epithelial-mesenchymal transition. *J. Cell. Mol. Med.* 2019; 23(2):761–774. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13972>
16. Goswami R., Merth M., Sharma S., Alharbi M.O., Aranda-Espinoza H., Zhu X., Rahaman S.O. TRPV4 calcium-permeable channel is a novel regulator of oxidized LDL-induced macrophage foam cell formation. *Free Radic. Biol. Med.* 2017; 110:142–150. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.06.004>
17. Burgess J.K., Harmsen M.C. Chronic lung diseases: entangled in extracellular matrix. *Eur. Respir. Rev.* 2022; 31(163):210202. <https://doi.org/10.1183/16000617.0202-2021>
18. Barnes P.J. The cytokine network in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2009; 41(6):631–638. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0220TR>
19. Wei B., Sheng Li C. Changes in Th1/Th2-producing cytokines during acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease. *J. Int. Med. Res.* 2018; 46(9):3890–3902. <https://doi.org/10.1177/0300060518781642>
20. Liu M., Wu K., Lin J., Xie Q., Liu Y., Huang Y., Zeng J., Yang Z., Wang Y., Dong S., Deng W., Yang M., Wu S., Jiang W., Li X. Emerging Biological Functions of IL-17A: A New Target in Chronic Obstructive Pulmonary Disease? *Front. Pharmacol.* 2021; 12:695957. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.695957>
21. Ji X., Li J., Xu L., Wang W., Luo M., Luo S., Ma L., Li K., Gong S., He L., Zhang Z., Yang P., Zhou Z., Xiang X., Wang C.Y. IL4 and IL-17A provide a Th2/Th17-polarized inflammatory milieu in favor of TGF- β 1 to induce bronchial

epithelial-mesenchymal transition (EMT). *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2013; 6(8):1481–1492. PMID: 23923066; PMCID: PMC3726963.

22. Su X., Wu W., Zhu Z., Lin X., Zeng Y. The effects of epithelial-mesenchymal transitions in COPD induced by cigarette smoke: an update. *Respir. Res.* 2022; 23(1):225. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02153-z>

23. Jing H., Liu L., Zhou J., Yao H. Inhibition of C-X-C Motif Chemokine 10 (CXCL10) Protects Mice from Cigarette Smoke-Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24:5748–5753. <https://doi.org/10.12659/MSM.909864>

24. Di Stefano A., Coccini T., Roda E., Signorini C., Balbi B., Brunetti G., Ceriana P. Blood MCP-1 levels are increased in chronic obstructive pulmonary disease patients with prevalent emphysema. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018; 13:1691–1700. <https://doi.org/10.2147/COPD.S159915>

Информация об авторах:

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

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

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

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

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

Елизавета Григорьевна Шелудько, 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

Author information:

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

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

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

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

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

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 01.11.2022
Принята к печати 15.11.2022

Received November 01, 2022
Accepted November 15, 2022

УДК 616-002-008.953-092:613.84:577.29

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-33-39

МОДУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ КАНАЛОВ TRPA1 И TRPM8 НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ МАКРОФАГАМИ

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

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Каналы с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP), экспрессированные на многих клетках, в том числе, на макрофагах, являются привлекательной мишенью для фармакологической модуляции с целью терапии различных заболеваний. При этом имеющиеся в настоящее время данные о функциональной роли TRP на макрофагах немногочисленны. **Цель.** Установить эффект каналов TRPA1 и TRPM8 на продукцию цитокинов макрофагами на фоне провоспалительной (M1) и противовоспалительной (M2) поляризации. **Материалы и методы.** Макрофаги были получены из моноцитов 8 здоровых добровольцев путем дифференцировки в присутствии GM-CSF или M-CSF. Поляризацию клеток проводили, добавляя в среду 100 нг/мл LPS + IFN- γ 20 нг/мл (M1) или IL-4 20 нг/мл (M2) на 24 ч. С целью модуляции активности TRP использовали циннамальдегид 100 мкМ (агонист TRPA1), HC-030031 100 мкМ (блокатор TRPA1), WS-12 10 мкМ (агонист TRPM8) или RQ-00434739 1 мкМ (блокатор TRPM8). **Результаты.** Установлено, что на фоне M1 поляризации канал TRPA1 угнетал продукцию CXCL10, а TRPM8 увеличивал уровень IL-8. При поляризации в M2 фенотип, TRPA1 подавлял образование провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-12p70 и IFN- γ , а TRPM8 значимо не влиял на уровни проанализированных медиаторов. **Заключение.** Полученные результаты указывают, что в аспекте продукции цитокинов макрофагами, для TRPA1 отмечается преимущественно противовоспалительный эффект, тогда как TRPM8 демонстрирует ограниченное влияние, сводящееся к регуляции синтеза IL-8.

Ключевые слова: макрофаги, ХОБЛ, курение, TRPV1, TRPV4, TRPM8, TRPA1, воспаление, бронхиальная обструкция.

MODULATING EFFECT OF TRPA1 AND TRPM8 CHANNELS ON CYTOKINE PRODUCTION BY PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY MACROPHAGES

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

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

SUMMARY. Introduction. Transient receptor potential (TRP) channels expressed on many cells, including macrophages, are an attractive target for pharmacological modulation for the treatment of various diseases. At the same time, currently available data on the functional role of TRP on macrophages are scarce. **Aim.** To establish the effect of TRPA1 and TRPM8 channels on the production of cytokines by macrophages during pro-inflammatory (M1) and anti-inflammatory (M2) polarization. **Materials and methods.** Macrophages were obtained from monocytes of 8 healthy donors by differentiation in the presence of GM-CSF or M-CSF. Cell polarization was achieved by adding to the culture medium 100 ng/ml LPS + IFN- γ 20 ng/ml (M1) or IL-4 20 ng/ml (M2) for 24 h. In order to modulate TRP activity, cinnamaldehyde 100 μ M (TRPA1 agonist), HC-030031 100 μ M (TRPA1 blocker), WS-12 10 μ M (TRPM8 agonist), or RQ-00434739 1 μ M (TRPM8 blocker) were used. **Results.** It was found that during M1 polarization TRPA1 channels inhibited the production of CXCL10, and TRPM8 increased the level of IL-8. Under polarization to the M2 phenotype, TRPA1 suppressed

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., Наумов Д.Е., Сугайло И.Ю., Горчакова Я.Г. Модулирующий эффект каналов TRPA1 и TRPM8 на продукцию цитокинов про- и противовоспалительными макрофагами // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.33–39. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-33-39

For citation:

Kotova O.O., Gassan D.A., Naumov D.E., Sugaylo I.Yu., Gorchakova Y.G. Modulating effect of TRPA1 and TRPM8 channels on cytokine production by pro- and anti-inflammatory macrophages. *Bületeren fiziologi i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (86):33–39 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-33-39

the production of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-12p70 and IFN- γ , and TRPM8 did not significantly affect the levels of the analyzed mediators. **Conclusion.** The obtained results indicate that in terms of cytokine production by macrophages, TRPA1 has a predominantly anti-inflammatory effect, while TRPM8 shows a limited influence, which come to the regulation of IL-8 synthesis.

Key words: *macrophages, COPD, smoking, TRPV1, TRPV4, TRPM8, TRPA1, inflammation, bronchial obstruction.*

Каналы с транзиторным рецепторным потенциалом (TRP) – обширное семейство рецепторных белков, включающее 28 представителей (у млекопитающих), объединенных в семь подсемейств согласно структурной гомологии. Различают ваниллоидные (TRPV), анкириновые (TRPA), меластатиновые (TRPM), полицистиновые (TRPP), канонические (TRPC), муколипиновые (TRPML) подтипы TRP каналов, а также TRPN, которые не экспрессируются у млекопитающих [1]. Каналы в различной степени проницаемы для катионов кальция, магния и натрия и активируются широким рядом физических и химических стимулов, среди которых температура, осмотическое давление, механическое воздействие, различные природные и синтетические соединения, в том числе эндогенные, образующиеся в организме в нормальных и патологических условиях. TRP каналы можно встретить практически во всех клетках и тканях организма человека. Не является исключением и респираторный тракт, где TRP экспрессированы на нейронах, клетках мерцательного эпителия, бокаловидных и базальных клетках, альвеолоцитах, фибробластах, гладкомышечных клетках, макрофагах, нейтрофилах, Т- и В-клетках, тучных клетках и эндотелии сосудов [2]. При столь большом разнообразии активирующих факторов и распространности, неудивительно, что каналы TRP тем или иным образом вовлечены в патогенез заболеваний всех известных органов и систем, в том числе онкологических, и поэтому являются привлекательными мишениями для фармакологической модуляции. С другой стороны, уже сейчас очевидно, что разработка и применение препаратов, оказывающих влияние на активность TRP, должны идти параллельно с внедрением персонализированного подхода для их назначения, с целью предотвращения развития нежелательных эффектов и увеличения эффективности терапии [3]. Таким образом, всесторонняя характеристика рецепторных белков TRP, в том числе особенностей их генетических последовательностей, экспрессии, функциональной активности у здоровых и больных лиц, является сложной и комплексной научной проблемой, решение которой позволит достичь существенного прогресса в диагностике и лечении многих заболеваний.

Среди прочих клеток, экспрессирующих TRP каналы, большой интерес представляют макрофаги. Данные клетки широко представлены в различных тканях организма и отличаются выраженной функциональной пластичностью. Так, помимо осуществления функции иммунного надзора, которая заключается в фагоцитозе патогенных микроорганизмов, процессинге и презен-

тации антигенов Т-клеткам, макрофаги выполняют роль «уборщиков», фагоцитируя клеточный дебрис, регулируют метаболизм железа, билирубина, холестерина, а также обеспечивают процессы тканевой репарации. С определенной долей условности, в зависимости от преобладающих функциональных характеристик, макрофаги принято разделять на фенотипы: M1 (привоспалительные) и M2 (противовоспалительные). Неадекватная поляризация клеток либо их функциональная неполнота, вне зависимости от фенотипа, может играть важную роль в развитии различных заболеваний, например, нейродегенеративной, опухолевой патологии, хронических воспалительных заболеваний, атеросклероза, ожирения, а также многих других [4]. Учитывая данное обстоятельство, для некоторых заболеваний уже сейчас разработаны новые подходы к лечению, основанные на модуляции функциональной активности макрофагов [5].

Целью настоящей работы являлась характеристика функциональной роли каналов TRPA1 и TRPM8 на макрофагах в аспекте влияния на продукцию цитокинов на фоне действия M1 и M2 поляризующих факторов.

Материалы и методы исследования

Исследования 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».

Эксперимент был выполнен на клетках, полученных от восьми здоровых добровольцев мужского пола. Мононуклеары периферической крови получали стандартным методом путем центрифugирования на градиенте фиколла с плотностью 1,077 г/мл (ООО «Биолот», Россия). После трех отмывок клетки ресусцинировали в среде RPMI-1640 (Sigma Chemical Co., Германия) и производили обогащение фракции моноцитов методом адгезии к пластику, выдерживая клетки в культуральных фляконах T25 при 37°C в течение 2 часов в RPMI-1640, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS) и 1% пенициллина/стрептомицина. После окон-

чании инкубации клетки трижды промывали для удаления лимфоцитов, а прикрепившимся моноцитам вновь добавляли RPMI-1640, содержащей 10% FCS, 1% пенициллина/стрептомицина и 50 нг/мл гранулоцитарно-макрофагального (GM-CSF) либо макрофагального (M-CSF) колониестимулирующего фактора (Biolegend, США). Клетки растали в приведенных условиях в течение 10 дней, а затем открепляли 0,3% раствором коллагеназы (ООО «Биолот», Россия) и пересаживали в 96-луночные культуральные планшеты для проведения эксперимента. Спустя сутки после пасажа вызывали поляризацию в M1-фенотип путем добавления клеткам, прежде культивированным в присутствии GM-CSF, липополисахаридов и интерферона гамма (LPS 100 нг/мл + 20 нг/мл рекомбинантного человеческого IFN- γ) или в M2-фенотип, добавляя клеткам, культивированным с M-CSF, рекомбинантный человеческий интерлейкин-4 (IL-4) в концентрации 20 нг/мл.

С целью оценки модулирующего влияния TRPM8 и TRPA1 на поляризацию клеток за 1 час до внесения поляризующих факторов (LPS/IFN- γ или IL-4) макрофагам добавляли агонист (100 мкМ циннамальдегида CA) либо антагонист TRPA1 (100 мкМ HC-030031, HC), а также агонист (10 мкМ WS-12, WS) либо антагонист TRPM8 (1 мкМ RQ-00434739, RQ).

По прошествии 24 часов собирали супернатант культуральной среды и определяли цитокины IL-4, IL-2, CXCL10, IL-1 β , TNF- α , MCP-1, IL-17A, IL-6, IL-10,

IFN- γ , IL-12p70, IL-8, TGF- β 1 с помощью мультиплексного анализа коммерческими наборами LEGENDplex HU Essential Immune Response Panel (BioLegend, США) на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (Becton Dickinson, США).

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Все данные представлены в формате Me (Q1-Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью парного критерия W Уилкоксона. В качестве критического уровня значимости принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Оценку влияния модуляции TRPA1 и TRPM8 на поляризацию клеток проводили, сравнивая продукцию цитокинов макрофагами в условиях активации или блокирования соответствующего катионного канала. Эксперимент с модуляцией активности TRPA1 на M1 клетках показал, что добавление CA, по сравнению с HC значительно угнетает продукцию хемокина CXCL10. Кроме этого, в аналогичных условиях были отмечены тенденции к увеличению концентраций IL-4 и MCP-1 в макрофагах, которым был добавлен CA (табл. 1). В экспериментах с M1 клетками мы не учитывали уровень продукции IFN- γ , поскольку его добавляли экзогенно.

Таблица 1

Продукция цитокинов макрофагами на фоне M1 поляризации и одновременной модуляции активности канала TRPA1

Цитокин	Макрофаги, подвергнутые M1 поляризации в условиях активации TRPA1	Макрофаги, подвергнутые M1 поляризации в условиях блокирования TRPA1	Значимость различий (р)
IL-4, пг/мл	15,1 (12,7-18,4)	13,7 (11,3-17,9)	0,09
IL-2, пг/мл	4,8 (2,9-5,7)	3,5 (2,3-4,5)	0,16
CXCL10, пг/мл	17,5 (12,9-37,8)	26,4 (16,8-53,7)	0,01
IL-1 β , пг/мл	60,7 (35,3-93,4)	42,9 (35,5-75,7)	0,67
TNF- α , пг/мл	3711,2 (2118,8-6889,9)	3651,9 (2582,0-9110,9)	0,40
MCP-1, пг/мл	4278,0 (763,54-10957,9)	2294,9 (582,8-9725,5)	0,07
IL-17A, пг/мл	3,7 (2,4-6,9)	7,2 (3,2-9,1)	0,12
IL-6, пг/мл	24706,0 (14255,3-35493,2)	25016,6 (16737,2-34063,1)	0,67
IL-10, пг/мл	33,5 (24,8-48,1)	28,2 (21,6-43,8)	0,12
IL-12p70, пг/мл	336,2 (125,1-525,6)	237,9 (103,6-406,3)	0,12
IL-8, пг/мл	6153,6 (5205,0-8756,1)	7293,8 (4527,6-9339,9)	0,99
TGF- β 1, пг/мл	141,0 (102,9-182,8)	137,8 (107,9-190,2)	0,26

Среди всех измеренных цитокинов, продуцируемых макрофагами на фоне M1 поляризации, канал TRPM8 оказывал влияние исключительно на уровень

IL-8. Активация, по сравнению с блокированием канала сопровождалась увеличенной продукцией данного цитокина (табл. 2).

Таблица 2

Продукция цитокинов макрофагами на фоне М1 поляризации и одновременной модуляции активности канала TRPM8

Цитокин	Макрофаги, подвергнутые М1 поляризации в условиях активации TRPM8	Макрофаги, подвергнутые М1 поляризации в условиях блокирования TRPM8	Значимость различий (р)
IL-4, пг/мл	16,1 (10,8-20,7)	16,1 (8,9-18,9)	0,86
IL-2, пг/мл	3,8 (3,1-7,9)	4,2 (3,0-5,6)	0,88
CXCL10, пг/мл	20,7 (16,3-46,6)	21,1 (17,0-38,6)	0,31
IL-1 β , пг/мл	85,2 (50,9-105,7)	72,9 (54,6-119,0)	0,77
TNF- α , пг/мл	2952,9 (1835,0-8-11220,0)	2840,8 (1962,9-9003,0)	0,40
MCP-1, пг/мл	2281,5 (763,5-12439,1)	2037,8 (542,0-11061,5)	0,26
IL-17A, пг/мл	8,8 (4,2-10,5)	10,4 (5,3-12,9)	0,12
IL-6, пг/мл	23239,1 (12433,6-33718,7)	23288,8 (10127,3-32153,0)	0,32
IL-10, пг/мл	41,1 (28,5-72,1)	47,9 (32,9-59,1)	0,48
IL-12p70, пг/мл	142,1 (51,4-258,2)	176,2 (88,8-225,5)	0,77
IL-8, пг/мл	7321,8 (6333,5-9929,7)	4718,5 (4258,8-7128,6)	0,03
TGF- β 1, пг/мл	121,2 (104,3-129,8)	102,3 (76,9-168,9)	0,88

Модуляция активности TRPA1 в клетках, находящихся под действием М2 поляризующих факторов, приводила к гораздо более существенным изменениям, по сравнению с тем, что мы наблюдали в М1 макрофагах (табл. 3). В данном сценарии TRPA1 отрицательно регулировал продукцию цитокинов IL-1 β , TNF- α , IL-6,

IFN- γ и IL-12p70. Кроме того, тенденции к снижению также были зафиксированы для MCP-1 и TGF- β 1. Мы не проводили анализ IL-4 в среде у М2 макрофагов, поскольку данный цитокин использовали для индукции противовоспалительной поляризации.

Таблица 3

Продукция цитокинов макрофагами на фоне М2 поляризации и одновременной модуляции активности канала TRPA1

Цитокин	Макрофаги, подвергнутые М2 поляризации в условиях активации TRPA1	Макрофаги, подвергнутые М2 поляризации в условиях блокирования TRPA1	Значимость различий (р)
IL-2, пг/мл	4,8 (3,1-5,4)	4,7 (3,2-5,5)	0,34
CXCL10, пг/мл	7,3 (6,3-7,9)	7,1 (6,7-8,3)	0,36
IL-1 β , пг/мл	25,9 (20,3-33,7)	38,0 (32,1-59,2)	0,01
TNF- α , пг/мл	14,2 (10,2-29,4)	30,1 (11,3-46,4)	0,01
MCP-1, пг/мл	5025,5 (1787,6-9620,0)	6912,8 (1528,4-11824,3)	0,07
IL-17A, пг/мл	8,2 (5,8-11,1)	9,5 (7,6-13,4)	0,26
IL-6, пг/мл	1337,3 (952,6-2282,7)	2722,5 (1387,8-5176,9)	0,01
IL-10, пг/мл	294,6 (37,7-468,6)	231,8 (50,9-385,7)	0,32
IFN- γ , пг/мл	18,1 (15,6-20,2)	40,8 (20,2-50,3)	0,02
IL-12p70, пг/мл	3,4 (2,8-3,9)	4,1 (3,6-4,7)	0,01
IL-8, пг/мл	5980,2 (4254,1-7989,0)	5429,4 (4792,4-8878,7)	0,77
TGF- β 1, пг/мл	87,9 (61,1-117,2)	114,4 (90,1-142,7)	0,09

В отличие от условий с M1 поляризацией, канал TRPM8 не оказывал значимого эффекта на продукцию цитокинов M2 макрофагами. Тем не менее, можно за-

метить, что уровень IL-8 также был заметно выше в клетках с добавлением агониста WS, чем в клетках, которым добавляли RQ.

Таблица 4

Продукция цитокинов макрофагами на фоне M2 поляризации и одновременной модуляции активности канала TRPM8

Цитокин	Макрофаги, подвергнутые M2 поляризации в условиях активации TRPM8	Макрофаги, подвергнутые M2 поляризации в условиях блокирования TRPM8	Значимость различий (р)
IL-2, пг/мл	6,4 (4,4-7,9)	6,1 (4,9-7,3)	0,99
CXCL10, пг/мл	8,1 (6,3-10,2)	8,2 (7,9-8,5)	0,73
IL-1 β , пг/мл	33,2 (29,1-43,6)	29,3 (25,9-58,2)	0,99
TNF- α , пг/мл	38,9 (14,3-46,2)	24,2 (13,5-50,7)	0,91
MCP-1, пг/мл	8684,3 (2357,9-17915,7)	8436,9 (3526,1-15315,9)	0,48
IL-17A, пг/мл	13,1 (5,1-19,6)	11,9 (7,7-15,1)	0,88
IL-6, пг/мл	2652,3 (1351,2-5718,7)	2932,4 (1462,2-5607,7)	0,57
IL-10, пг/мл	352,2 (72,7-661,6)	310,8 (96,5-698,5)	0,88
IFN- γ , пг/мл	30,0 (19,9-45,2)	27,6 (21,6-52,7)	0,31
IL-12p70, пг/мл	4,6 (4,1-5,6)	4,2 (3,7-5,4)	0,86
IL-8, пг/мл	13437,8 (6093,8-15440,9)	8393,7 (7399,9-11347,5)	0,26
TGF- β 1, пг/мл	128,5 (79,7-150,2)	136,3 (71,3-146,8)	0,99

Данные, полученные в настоящем исследовании, согласуются с результатами прежде проведенных работ, указывающих на противовоспалительную активность TRPA1 на макрофагах. Так, мы обнаружили, что в M1 клетках TRPA1 снижает продукцию CXCL10 – провоспалительного хемокина, который служит хемоаттрактантом для ряда клеток иммунной системы. Это, прежде всего, относится к Т-, NK-клеткам, моноцитам и макрофагам. Известно, что CXCL10 способствует дифференцировке Т-клеток в Th1 и Th17, а В-клеток – в плазматические клетки. Кроме этого, данный хемокин играет важную роль в индукции синтеза моноцитами другого провоспалительного цитокина – IL-12p70 [6]. Ранее мы уже наблюдали ингибирующий эффект TRPA1 на продукцию CXCL10 макрофагами, дифференцированными с GM-CSF без дополнительной поляризации. Тогда же было обнаружено, что канал опосредует снижение CXCL10 при действии на клетки экстракта сигаретного дыма [7]. L.K.Chao et al. установили, что СА тормозил LPS-индуцированную секрецию IL-1 β и TNF- α и снижал выработку активных форм кислорода в линии мышиных макрофагов J774A.1, макрофагах, дифференцированных из человеческих моноцитов, а также линии моноцитов THP-1 [8]. При этом нокаут гена TRPA1, напротив, увеличивал экспрессию M1 маркеров (индукционная синтаза оксида азота, IL-1 β , IL-6, TNF- α), но уменьшал маркеры M2 (CD206, аргиназа-1) в мышиных макрофагах [9]. Хотя мы не наблюдали подобного эффекта на M1

макрофагах, на M2 клетках активация TRPA1 СА действительно снижала не только IL-1 β и TNF- α , но и продукцию других провоспалительных цитокинов – IL-6, IL-12p70 и IFN- γ .

При этом нам не удалось продемонстрировать существенного эффекта TRPM8 на цитокиновый профиль макрофагов вне зависимости от типа поляризации. Активность канала оказывала влияние только на уровень IL-8, что в большей степени проявлялось на фоне M1 поляризации клеток. В нашем эксперименте отмечалась положительная регуляция продукции цитокина, что противоречит имеющимся в литературе данным о противовоспалительных изменениях, индуцируемых каналом TRPM8 в макрофагах. Известно, что IL-8 не только является фактором хемотаксиса нейтрофилов, моноцитов и макрофагов, но, кроме этого, способен усиливать провоспалительный ответ последних, увеличивая продукцию IL-1 β и IL-6. Также было установлено, что IL-8 апрегулирует рецепторы к IFN- γ , CCL19 и CCL21, но снижает экспрессию IL-4RA [10]. При этом M.Khalil et al. обнаружили, что стимуляция макрофагов LPS сопровождалась повышенной секрецией TNF- α и ослабленной продукцией IL-10 в клетках, экспрессия TRPM8 в которых была заблокирована. В то же время агонист TRPM8 ментол подавлял TNF- α и стимулировал образование IL-10 [11]. В другом исследовании блокирование TRPM8 на моноцитах на начальном этапе дифференцировки в макрофаги в дальнейшем способствовало более высокой

продукции TNF- α в ответ на стимуляцию LPS [12].

Выводы

В проведенном исследовании было установлено, что TRPA1 оказывает противовоспалительный эффект на функциональное состояние макрофагов, что проявляется снижением синтеза CXCL10 в клетках на фоне M1 поляризации, а также угнетением продукции основных провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-12p70 и IFN- γ) в M2 клетках. В то же время, TRPM8 обеспечивает положительную регуляцию IL-8, и не влияет существенно на другие цитокины, что, хотя и в ограниченной степени, указывает на его способность усиливать провоспалительный ответ макрофагов. Полученные результаты представляют ценное дополнение к имеющимся данным и формируют базис, обосновывающий возможность использования иммуномодулирующего эффекта агонистов и антагонистов TRPA1 и TRPM8 в терапии различных, в том числе

респираторных, заболеваний. В ходе дальнейших экспериментов необходимо произвести дополнительное уточнение полученных результатов за счет характеристики влияния TRPA1 и TRPM8 на экспрессию мембрano-связанных маркеров поляризации и внутриклеточных факторов транскрипции, что позволит более точно определить фенотипическое состояние клеток.

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. Belvisi M.G., Birrell M.A. The emerging role of transient receptor potential channels in chronic lung disease // Eur. Respir. J. 2017. Vol.50, Iss.2. Article number: 1601357. <https://doi.org/10.1183/13993003.01357-2016>
2. Müller I., Alt P., Rajan S., Schaller L., Geiger F., Dietrich A. Transient Receptor Potential (TRP) Channels in Airway Toxicity and Disease: An Update // Cells. 2022. Vol.11, Iss.18. Article number: 2907. <https://doi.org/10.3390/cells11182907>
3. Koivisto A.P., Belvisi M.G., Gaudet R., Szallasi A. Advances in TRP channel drug discovery: from target validation to clinical studies // Nat. Rev. Drug Discov. 2022. Vol.21, Iss.1. P.41–59. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00268-4>
4. Zhang C., Yang M., Ericsson A.C. Function of Macrophages in Disease: Current Understanding on Molecular Mechanisms // Front. Immunol. 2021. Vol.12. Article number: 620510. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.620510>
5. Ardura J.A., Rackov G., Izquierdo E., Alonso V., Gortazar A.R., Escribese M.M. Targeting Macrophages: Friends or Foes in Disease? // Front. Pharmacol. 2019. Vol.10. Article number: 1255. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01255>
6. Zhao Q., Kim T., Pang J., Sun W., Yang X., Wang J., Song Y., Zhang H., Sun H., Rangan V., Deshpande S., Tang H., Cvijic M.E., Westhouse R., Olah T., Xie J., Struthers M., Salter-Cid L. A novel function of CXCL10 in mediating monocyte production of proinflammatory cytokines // J. Leukoc. Biol. 2017. Vol.102, Iss.5. P.1271–1280. <https://doi.org/10.1189/jlb.5A0717-302>
7. Naumov D., Gassan D., Kotova O., Sugaylo I., Gorchakova Y. Cigarette smoke reduces CXCL10 production by macrophages via TRPA1-dependent mechanism // Respirology. 2021. Vol.26, Iss.S3. Article number: P2-55. https://doi.org/10.1111/resp.14150_151
8. Chao L.K., Hua K.F., Hsu H.Y., Cheng S.S., Lin I.F., Chen C.J., Chen S.T., Chang S.T. Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes/macrophages through suppression of intracellular signaling // Food Chem. Toxicol. 2008. Vol.46, Iss.1. P.220-231. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.07.016>
9. Wang Q., Chen K., Zhang F., Peng K., Wang Z., Yang D., Yang Y. TRPA1 regulates macrophages phenotype plasticity and atherosclerosis progression // Atherosclerosis. 2020. Vol.301. P.44–53. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.04.004>
10. Menialo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. Interleukin-8 favors pro-inflammatory activity of human monocytes/macrophages // Int. Immunopharmacol. 2018. Vol.56. P.217–221. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.036>
11. Khalil M., Babes A., Lakra R., Förtsch S., Reeh P.W., Wirtz S., Becker C., Neurath M.F., Engel M.A. Transient receptor potential melastatin 8 ion channel in macrophages modulates colitis through a balance-shift in TNF-alpha and interleukin-10 production // Mucosal Immunol. 2016. Vol.9, Iss.6. P.1500–1513. <https://doi.org/10.1038/mi.2016.16>
12. Hornsby E., King H.W., Peiris M., Buccafusca R., Lee W.J., Wing E.S., Blackshaw L.A., Lindsay J.O., Stagg A.J. The cation channel TRPM8 influences the differentiation and function of human monocytes // J. Leukoc. Biol. 2022. Vol.112, Iss.3. P.365–381. <https://doi.org/10.1002/JLB.1H10421-181R>

REFERENCES

1. Belvisi M.G., Birrell M.A. The emerging role of transient receptor potential channels in chronic lung disease. *Eur. Respir. J.* 2017; 50(2):1601357. <https://doi.org/10.1183/13993003.01357-2016>
2. Müller I., Alt P., Rajan S., Schaller L., Geiger F., Dietrich A. Transient Receptor Potential (TRP) Channels in Airway

- Toxicity and Disease: An Update. *Cells* 2022; 11(18):2907. <https://doi.org/10.3390/cells11182907>
3. Koivisto A.P., Belvisi M.G., Gaudet R., Szallasi A. Advances in TRP channel drug discovery: from target validation to clinical studies. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2022; 21(1):41–59. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00268-4>
4. Zhang C., Yang M., Ericsson A.C. Function of Macrophages in Disease: Current Understanding on Molecular Mechanisms. *Front. Immunol.* 2021; 12:620510. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.620510>
5. Ardura J.A., Rackov G., Izquierdo E., Alonso V., Gortazar A.R., Escribese M.M. Targeting Macrophages: Friends or Foes in Disease? *Front. Pharmacol.* 2019; 10:1255. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01255>
6. Zhao Q., Kim T., Pang J., Sun W., Yang X., Wang J., Song Y., Zhang H., Sun H., Rangan V., Deshpande S., Tang H., Cvijic M.E., Westhouse R., Olah T., Xie J., Struthers M., Salter-Cid L. A novel function of CXCL10 in mediating monocyte production of proinflammatory cytokines. *J. Leukoc. Biol.* 2017; 102(5):1271–1280. <https://doi.org/10.1189/jlb.5A0717-302>
7. Naumov D., Gassan D., Kotova O., Sugaylo I., Gorchakova Y. Cigarette smoke reduces CXCL10 production by macrophages via TRPA1-dependent mechanism. *Respirology* 2021; 26(S3):P2-55. https://doi.org/10.1111/resp.14150_151
8. Chao L.K., Hua K.F., Hsu H.Y., Cheng S.S., Lin I.F., Chen C.J., Chen S.T., Chang S.T. Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes/macrophages through suppression of intracellular signaling. *Food Chem. Toxicol.* 2008; 46(1):220–231. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.07.016>
9. Wang Q., Chen K., Zhang F., Peng K., Wang Z., Yang D., Yang Y. TRPA1 regulates macrophages phenotype plasticity and atherosclerosis progression. *Atherosclerosis* 2020; 301:44–53. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.04.004>
10. Menialo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. Interleukin-8 favors pro-inflammatory activity of human monocytes/macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 2018; 56:217–221. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.01.036>
11. Khalil M., Babes A., Lakra R., Försch S., Reeh P.W., Wirtz S., Becker C., Neurath M.F., Engel M.A. Transient receptor potential melastatin 8 ion channel in macrophages modulates colitis through a balance-shift in TNF-alpha and interleukin-10 production. *Mucosal Immunol.* 2016; 9(6):1500–1513. <https://doi.org/10.1038/mi.2016.16>
12. Hornsby E., King H.W., Peiris M., Buccafusca R., Lee W.J., Wing E.S., Blackshaw L.A., Lindsay J.O., Stagg A.J. The cation channel TRPM8 influences the differentiation and function of human monocytes. *J. Leukoc. Biol.* 2022; 112(3):365–381. <https://doi.org/10.1002/JLB.1HI0421-181R>

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

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

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

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

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

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

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

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

УДК 612.2/-29(616.155.34+577.152.193)616.248:616.233-001.19-007.271

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-40-49

НЕЙТРОФИЛЫ И МИЕЛОПЕРОКСИДАЗА ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ПРИ ХОЛОД-ИНДУЦИРОВАННОМ БРОНХОСПАЗМЕ

А.Б.Пирогов, А.Г.Приходько, Ю.М.Перельман

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Роль нейтрофильного воспаления бронхов больных бронхиальной астмой (БА) в развитии и реализации холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП) недостаточно исследована. **Цель.** Оценить уровень нейтрофилов и активность миелопероксидазы (МПО) в бронхах больных БА при холод-индукции бронхоспазма. **Материалы и методы.** У 138 больных БА среднетяжелого и легкого течения с ХГДП изучали уровень контроля над заболеванием (АСТ), функцию внешнего дыхания (ОФВ₁), исследовали мокроту до и после проведения бронхопровокационной пробы изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (ИГХВ). В образцах мокроты оценивали содержание нейтрофилов, эозинофилов и клеток бронхиального эпителия (структурно целостных цилиндрических ресниччатых и бокаловидных), цитохимическим методом изучали содержание и активность МПО в нейтрофилах. **Результаты.** Больные разделены на три группы: 1 группа (n=94) – пациенты с лёгким холод-индукционным бронхоспазмом, 2 группа (n=28) – с бронхоспазмом средней степени, 3 группа (n=16) – с тяжелым бронхоспазмом ($\Delta\text{O}\text{F}\text{V}_1 = -13,5 \pm 0,3$; $-24,6 \pm 0,5$; $-36,9 \pm 1,5\%$, соответственно). Больные не отличались по уровню контроля над астмой (16 [12; 21]; 16 [13; 20] и 16 [12; 21] баллов АСТ, соответственно). Больные 3 группы имели более низкие значения бронхиальной проходимости по сравнению с 1 и 2 группами: ОФВ₁ 79,4±3,2; 92,4±1,7 ($p < 0,01$); 92,1±2,9% и СОС₂₅₋₇₅ 46,4±4,3; 66,1±2,5 ($p < 0,001$); 63,2±4,0% ($p < 0,01$). В мокроте после пробы ИГХВ во 2 и 3 группах регистрировалось увеличение количества нейтрофилов с 35,5±3,9 до 46,0±3,8% ($p < 0,05$) и с 39,0±3,8 до 52,4±4,4% ($p < 0,05$), соответственно, тогда как число нейтрофилов в 1 группе не изменялось (43,2±2,4 и 44,3±2,1%). Содержание МПО в ответ на пробу ИГХВ во всех группах достоверно повышалось более чем на 30% ($p < 0,05$). **Заключение.** Мобилизация нейтрофилов в смешанном паттерне воспаления дыхательных путей больных БА ассоциирована с утяжелением холод-индукционного бронхоспазма. Увеличение содержания МПО в гранулах нейтрофилов в ответ на действие холодного воздуха направлено на усиление секреции фермента в интерстиций, активизацию его окислительной деятельности в дыхательных путях и эскалацию оксидативного/галогенирующего стресса, сопровождающего бронхоспазм.

Ключевые слова: бронхиальная астма, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, нейтрофилы, гранулоцитарный паттерн воспаления бронхов, миелопероксидаза, холод-индукционный бронхоспазм.

AIRWAY NEUTROPHILS AND MYELOPEROXIDASE IN ASTHMA PATIENTS WITH COLD-INDUCED BRONCHOCONSTRICTION

A.B.Pirogov, A.G.Prikhodko, J.M.Perelman

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

SUMMARY. Introduction. The role of neutrophil inflammation of the bronchi in patients with asthma in the development and manifestation of cold airway hyperresponsiveness (CAHR) has not been sufficiently studied. **Aim.** To assess the level of neutrophils and the activity of myeloperoxidase (MPO) in the bronchi of asthma patients with cold-induced

Контактная информация

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Correspondence should be addressed to

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Senior Staff Scientist, 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@dncfpd.ru

Для цитирования:

Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Нейтрофилы и миелопероксидаза дыхательных путей больных бронхиальной астмой при холод-индукционном бронхоспазме // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.40–49. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-40-49

For citation:

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M. Airway neutrophils and myeloperoxidase in asthma patients with cold-induced bronchoconstriction. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):40–49 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-40-49

bronchospasm. **Materials and methods.** In 138 patients with mild-to-moderate asthma with CAHR, the level of asthma control (ACT), lung function (FEV₁), cellular composition of sputum was examined before and after the bronchoprovocation test by isocapnic hyperventilation with cold air (IHCA). In sputum samples, the percentage of neutrophils, eosinophils, and bronchial epithelial cells (structurally intact cylindrical ciliated and goblet cells) was assessed; the concentration and activity of MPO in neutrophils were studied by the cytochemical method. **Results.** The patients were divided into three groups: group 1 (n=94) – patients with mild cold-induced bronchospasm, group 2 (n=28) – with moderate bronchospasm, group 3 (n=16) – with severe bronchospasm ($\Delta\text{FEV}_1 = -13.5 \pm 0.3$, -24.6 ± 0.5 , $-36.9 \pm 1.5\%$, respectively). Patients did not differ in the level of asthma control (16 [12; 21]; 16 [13; 20] and 16 [12; 21] ACT points, respectively). Patients of the third group had lower values of bronchial patency in comparison with the first and second groups: FEV₁ 79.4±3.2%; 92.4±1.7 (p<0.01); 92.1±2.9% and FEF₂₅₋₇₅ 46.4±4.3; 66.1±2.5 (p<0.001); 63.2±4.0% (p<0.01). In sputum after the IHCA test in groups 2 and 3, an increase in the number of neutrophils was recorded from 35.5±3.9 to 46.0±3.8% (p<0.05) and from 39.0±3.8 to 52.4±4.4% (p<0.05), respectively, while the number of neutrophils in group 1 did not change (43.2±2.4 and 44.3±2.1%). The concentration of MPO in response to the IHCA test in all groups significantly increased by more than 30% (p<0.05). **Conclusion.** The mobilization of neutrophils in a mixed pattern of airway inflammation in asthma patients is associated with worsening of cold-induced bronchospasm. An increase in the content of MPO in neutrophil granules in response to the action of cold air is aimed at enhancing the secretion of the enzyme in the interstitium, activating its oxidative activity in the respiratory tract, and escalating the oxidative/halogenating stress that accompanies bronchospasm.

Key words: bronchial asthma, cold airway hyperresponsiveness, neutrophils, granulocytic pattern of bronchial inflammation, myeloperoxidase, cold-induced bronchospasm.

Одной из морфофункциональных характеристик клинического феномена холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП), развивающегося у больных бронхиальной астмой (БА) при воздействии на организм низких температур атмосферного воздуха [1], является активация смешанного паттерна воспаления [2], при котором в популяции гранулоцитов бронхов насчитывается ≥2% эозинофилов и ≥40% нейтрофилов [3]. ХГДП диагностируется у большинства (60-80%) пациентов, проживающих в климатических условиях Сибири и Дальнего Востока [1], ассоциируясь с утяжелением течения болезни и сложной проблемой достижения контроля над астмой [2].

Наиболее тяжелые симптомы заболевания, высокая потребность больных БА в ежедневном использовании β2-агонистов, низкие показатели вентиляционной функции легких и контроля над астмой, обострения, трудно поддающиеся терапии ингаляционными кортикоステроидами и требующие применения системных стероидов, базируются на нейтрофильном или смешанном паттерне бронхиального воспаления [3–7]. Подобный паттерн отличается высокой степенью деструкции и цитолиза пула бронхиальных нейтрофилов и выраженной пероксидазной активностью [2]. Рост количества активно продуцирующих пероксидазу нейтрофилов в воспалительном инфильтрате бронхов пациентов с ХГДП сопровождается индукцией эпителиальной дисфункции, накоплением вторичных продуктов перекисного окисления липидов в паренхиме и строме дыхательных путей, а также такими клиникофункциональными проявлениями болезни, как ограничение воздушного потока и утрата контроля над астмой [8].

По современным представлениям, гиперреактивность гладкой мускулатуры бронхов при нарушении вентиляционной функции легких по обструктивному

типу [9], деструкция цилиарного эпителия, гипертрофия, пролиферация и гиперплазия лейомиоцитов, лежащие в основе бронхоспастического синдрома при БА, связаны с активацией различных изоформ NADPH-оксидазы [10] – многокомпонентной ферментной системы, способной окислять восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADPH) и передислоцировать электроны с NADPH на молекулярный кислород [11]. В нейтрофилах модулирование активности NADPH-оксидазы, прaimированное провоспалительными цитокинами GM-CSF, TNFα и IL-8, запускает процесс респираторного взрыва, что приводит к генерации активных форм кислорода (АФК) [11, 12], инициируя типовые для заболеваний органов дыхания, в том числе и для БА, реакции оксидативного стресса [13]. Сборка единого NADPH-оксидазного комплекса запускается активацией клеточных рецепторов, киназ и гуанозинтрифосфатаз, ведущих к фосфорилированию и мембранный передислокации оксидазных компонентов при респираторном взрыве нейтрофилов [11, 14]. Принимая первый электрон, молекула кислорода превращается в агрессивный супероксид анион-радикал \bar{O}_2 , который в дальнейшем спонтанно или под действием супероксиддисмутазы подвергается удалению: к \bar{O}_2 присоединяется либо электрон с образованием супероксид аниона O_2^{2-} , либо ион H^+ с образованием гидропероксид аниона HO_2^- , который далее восстанавливается до более устойчивого пероксида водорода H_2O_2 . В присутствии H_2O_2 фермент азурофильтальных гранул нейтрофилов миелопероксидаза (МПО) катализирует синтез высоко-реакционноспособных галогенсодержащих соединений (активных форм галогенов, АФГ), конвертируя оксидативный стресс в галогенирующий [15].

Причастность респираторного взрыва и пероксидазной активности нейтрофилов к реакции дыхатель-

ных путей больных БА на холодовой стимул при смешанном гранулоцитарном воспалительном фенотипе очевидна, однако механизмы преобразования структуры и функциональной активности эпителиальных и гладкомышечных клеток бронхов, лежащие в основе возникновения бронхоспазма под воздействием нейтрофилов, не изучены.

В связи с актуальностью вопроса о роли нейтрофильного сегмента бронхиального воспаления в развитии и реализации ХГДП предпринята настоящая работа, целью которой является оценка уровня нейтрофилов и активности МПО бронхов больных БА при холод-индуцированном бронхоспазме.

Материалы и методы исследования

В наблюдательном исследовании участвовали больные обоего пола ($n=138$) с диагнозом БА неаллергического фенотипа, среднетяжелого и легкого течения (критерии GINA, 2018) [16], получавшие стандартную базисную противовоспалительную терапию в соответствии с тяжестью заболевания.

Критерий включения больных: возраст 18-65 лет, клинический диагноз БА, наличие инструментально подтверждённой ХГДП, ОФВ₁ более 70% должной величины на момент тестирования, отсутствие острых и сопутствующих заболеваний, оказывающих влияние на проведение функциональных исследований. Исключались больные с наличием холодовой аллергии, а также не подписавшие информированное согласие на исследование.

Больные обследованы в 2-дневном режиме, в первую половину дня (до 12 часов). Проводили анкетирование путём заполнения вопросника Asthma Control Test (ACT, Quality Metric Inc., 2002), исследование функции внешнего дыхания методом спирометрии на аппарате Easy on PC (NDD Medizintechnik AG, Швейцария) с анализом параметров кривой «поток-объем форсированного выдоха» исходно и через 15 мин после ингаляции аэрозоля β_2 -агониста короткого действия (сальбутамол, 400 мкг), после чего осуществляли сбор индуцированной мокроты (ИМ) по стандартной методике [17]. На следующий день выполняли бронхопривакационную пробу изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (ИГХВ) [1], после которой проводили сбор спонтанно продуцируемой мокроты. Для всех больных забор биологического материала был стандартизирован. Для анализа спирометрических данных были использованы должные значения ECCS/EGKS для лиц европеоидной расы старше 18 лет.

Исследование холодовой реактивности дыхательных путей проводили путём 3-минутной изокапнической (5% CO₂) гипервентиляции (60% должной максимальной вентиляции лёгких) холодным воздухом (-20°C) под спирометрическим контролем [1]. Диагноз ХГДП выставляли при условии падения объёма форсированного выдоха за 1 сек ($\Delta\text{O}\text{F}\text{V}_1$) более чем на

10% после ИГХВ.

Исследование мокроты проводили не позднее 2 часов после ее получения. Цитологические мазки изготавливали стандартным методом Кост, высушивали в воздушной среде (5-10 мин., 37°C) термостата ТМ-2, фиксировали 10 мин. в парах 40% раствора формалина, окрашивали в 4-5% водном красителе Романовского-Гимза (рН 6,8). Микропрепараты изучали при помощи светооптической иммерсионной микроскопии, с подсчётом не менее 400 клеток в 100 полях зрения. Число нейтрофилов, эозинофилов и клеток бронхиального эпителия (структурно целостных цилиндрических реснитчатых и бокаловидных) выражали в процентах от общего числа подсчитанных в мазках клеток.

Цитохимическое исследование активности МПО в нейтрофилах мокроты проводили с помощью метода Грэхема-Кнолля [18] с докраской мазков после обработки бензидином и перекисью водорода водным раствором азура-2. Для цифровой обработки изображений использовали компьютерные программы Image Tool и Optika Vision Pro (Италия), Mac Biophotonics Image S (США). На основании данных, полученных с помощью программы для микроденситометрии, по оптической плотности фермента в исследуемых клетках рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) МПО (в пикселях).

Статистический анализ проводили на основе стандартных методов вариационной статистики. Для оценки соответствия признака закону нормального распределения применяли критерии Колмогорова-Смирнова, Пирсона-Мизеса. Если выборка соответствовала гауссовому типу распределения, использовали непарный и парный критерий t (Стьюдента), при негауссовом распределении применяли критерий Колмогорова-Смирнова. Описательная статистика количественных признаков представлена с помощью среднего арифметического, стандартной ошибки среднего арифметического ($M \pm m$), а также медианы и квартилей ($Me[Q_1; Q_3]$). В качестве критического уровня значимости (p) принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам анкетирования итоговые значения контроля над астмой в общей группе составили 16 [12; 21] баллов ACT. Порядка 65% больных имели низкий контроль над заболеванием (менее 20 баллов ACT). Несмотря на достаточно высокие базовые значения бронхиальной проходимости (ОФВ₁ 90,8±1,4% должной, ОФВ₁/ЖЕЛ 71,4±0,7%), клинически значимый прирост ОФВ₁ после пробы с сальбутамолом ($\Delta\text{O}\text{F}\text{V}_{1\text{бл}} > 12\%$) был зарегистрирован у 45% больных, медианное значение $\Delta\text{O}\text{F}\text{V}_{1\text{бл}}$ составило 11 [5; 24,3]%. По данным бронхопривакационной пробы ИГХВ, величина $\Delta\text{O}\text{F}\text{V}_1$ варьировала от -10 до -48,8%, в среднем составила -16 [-23,0; -12,0]%. Степень выраженности бронхоспастической реакции после тестирования оценивалась в 68% случаев как лёгкий бронхоспазм, в 20% средней сте-

пени тяжести и в 12% как тяжёлый, в соответствии с классификацией степени тяжести ХГДП (табл. 1) [19]. Изучение исходного клеточного состава мокроты показало, что в воспалительном инфильтрате бронхов у больных выявлялся достаточно высокий уровень не только эозинофилов (10,0 [2,2; 21,1]%), но и нейтрофилов (37,0 [23; 56]%).

Для того чтобы оценить роль нейтрофильного сег-

мента бронхиального воспаления в реализации ХГДП, исследуемые больные были распределены в три группы по степени тяжести реакции дыхательных путей на пробу ИГХВ. В 1 группу ($n=94$) вошли пациенты с легким холод-индуцированным бронхоспазмом, во 2 группу ($n=28$) – со средней степенью, в 3 группу ($n=16$) – с тяжелым бронхоспазмом (табл. 1).

Функция легких и уровень контроля над бронхиальной астмой

Таблица 1

Показатели	1 группа	2 группа	p	3 группа	p	p
Возраст, лет	40,5±1,2	39,4±2,1	>0,05	40,0±3,1	>0,05	>0,05
Курящие лица, %	57	54	>0,05	63	>0,05	>0,05
ИК, пачка/лет	11,3±1,3	12,6±2,4	>0,05	14,2±2,9	>0,05	>0,05
АСТ, баллы	16 [12; 21]	16 [13; 20]	>0,05	16 [12; 21]	>0,05	>0,05
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %	73,5±1,17	72,0±1,5	>0,05	65,0±1,7	<0,001	>0,05
ФЖЕЛ, % долж.	102,4±2,1	104,3±2,8	>0,05	98,3±3,2	>0,05	>0,05
ОФВ ₁ , % долж.	92,4±1,7	92,1±2,9	>0,05	79,4±3,2	<0,01	>0,05
СОС ₂₅₋₇₅ , % долж.	66,1±2,5	63,2±4,0	>0,05	46,4±4,3	<0,001	<0,01
ΔОФВ _{1бд} , %	9 [5; 17,5]	11 [5; 26]	>0,05	26,7 [15,2; 33,3]	<0,01	>0,05
ΔОФВ ₁ , %	-13,5±0,3	-24,6±0,5	<0,0001	-36,9±1,5	<0,0001	<0,0001

Примечание: p – значимость различий показателей в сравнении с 1 группой, p_1 – значимость различий между 2 и 3 группами (при $M \pm m$ использован непарный t-критерий; при $Me [Q_1; Q_3]$ непараметрический критерий Колмогорова-Смирнова).

Несмотря на то, что больные значимо не отличались по уровню контроля над БА, пациенты с тяжелым бронхоспазмом (3 группа) имели более низкие значения параметров бронхиальной проходимости, отражающих как центральные, так и периферические дыхательные пути, о чем свидетельствовали ОФВ₁ и СОС₂₅₋₇₅ (табл. 1). В данной группе, помимо высокой лабильности бронхов в ответ на бронхопровокацию холодным воздухом, мы наблюдали такую же высокую лабильность бронхов на введение аэрозоля сальбутамола относительно лиц 1 группы (табл. 1).

При анализе цитограмм мокроты процентное содержание нейтрофилов, эозинофилов и макрофагов как до, так и после пробы ИГХВ не имело достоверных межгрупповых различий (табл. 2). Тем не менее, в ответ на ингаляцию холодного воздуха регистрировался статистически значимый прирост в мокроте числа нейтрофилов у больных со среднетяжёлым и тяжелым бронхоспазмом (2 и 3 группы) по сравнению с лицами 1 группы, у которых не было выявлено значимой динамики (рис.). Содержание эозинофилов в мокроте существенно не менялось и послеprovокации оставалось достаточно высоким во всех группах (табл. 2). Обращает на себя внимание, что исходно неповреждённых эпителиоцитов насчитывалось существенно

больше у больных 1 группы, чем у пациентов 2 группы (табл. 2). После пробы ИГХВ отмечено более выраженное процентное снижение содержания нормальных клеток бронхиального эпителия в группе с тяжелым бронхоспазмом (рис.).

Содержание нейтрофильной МПО не имело межгрупповых различий исходно и после холодовой бронхопровокации, при этом внутригрупповой парный анализ по Стьюденту показал достоверное увеличение показателя после ИГХВ (табл. 2).

Таким образом, у больных БА со смешанным гранулоцитарным паттерном воспаления дыхательных путей при среднетяжелом и тяжелом бронхоспазме в ответ на гипервентиляцию холодным воздухом мы наблюдали значимое увеличение доли нейтрофилов и некоторую инертность в поведении эозинофилов. Одновременно с этим во всех группах холодовой бронхоспазм сопровождался ростом величины СЦК МПО, отражающей увеличение содержания фермента, локализованного в гранулах нейтрофилов. Это свидетельствовало об эскалации окислительной функции нейтрофилов с целью усиления секреции пероксидазы в экстрацеллюлярное пространство в процессе дегрануляции, интенсифицирующейся при респираторном взрыве [20].

Таблица 2

**Содержания клеточных элементов, бронхиального эпителия, активности миелопероксидазы
нейтрофилов в мокроте больных бронхиальной астмой исходно и после проведения пробы ИГХВ**

Показатели	1 группа	2 группа	p	3 группа	p	p
Нейтрофилы, %	<u>43,2±2,4</u> 44,3±2,1	<u>35,5±3,9</u> 46,0±3,8*	>0,05 >0,05	<u>39,0±3,8</u> 52,4±4,4*	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05
Макрофаги, %	<u>33,4±2,5</u> 34,1±1,9	<u>39,8±4,8</u> 32,2±3,8	>0,05 >0,05	<u>36,9±3,4</u> 31,2±3,9	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05
Эозинофилы, %	<u>12,5±1,3</u> 14,4±1,8	<u>17,6±2,5</u> 15,9±3,2	>0,05 >0,05	<u>14,8±3,4</u> 10,5±2,7	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05
Бронхиальный эпите- лий, %	<u>5,34±0,75</u> 4,10±0,72	<u>2,55±0,64</u> 3,28±0,56	<0,01 >0,05	<u>4,00±0,52</u> 2,90±0,46	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05
СЦК МПО, в пикселях	<u>88,5±6,6</u> 120±10,0***	<u>81,7±9,4</u> 112,5±7,5**	>0,05 >0,05	<u>70,0±10,0</u> 105,0±15,0*	>0,05 >0,05	>0,05 >0,05

Примечание: В числителе приведены значения показателей до пробы ИГХВ, в знаменателе – значения после пробы ИГХВ; p – значимость различий показателей в сравнении с 1 группой, p_1 – значимость различий между 2 и 3 группами. Звездочка – здесь и ниже значимость различий показателей (парный критерий t) до и после пробы ИГХВ (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$).

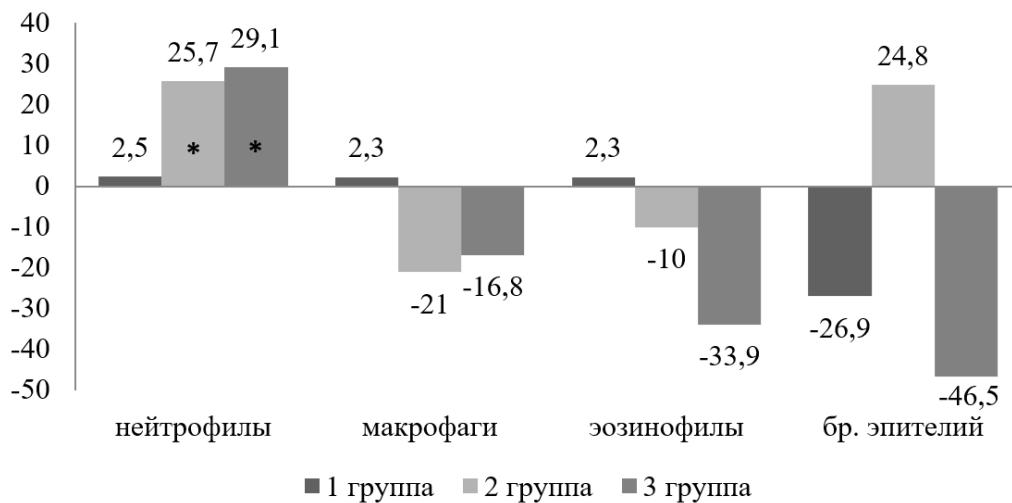


Рис. Динамика изменения средних значений показателя (Δ , %) после проведения пробы ИГХВ.

Как следует из выполненных нами ранее исследований [20], при реализации ХГДП тотальной дегрануляции нейтрофилов на пике респираторного взрыва предшествует активация мембранных оксидаз и лизосомной МПО, что соответствует потребностям бронхиального воспаления в АФК и АФГ. Стимулированная холод-индуцированным бронхоспазмом мобилизация пероксидазных резервов нейтрофилов, обеспечивающая высвобождение активных молекул кислорода и галогенов из клеток, находит свое завершение в функциональном источнике депонированных в лизосомах запасов фермента, опустошении пероксидазо-позитивных гранул [20] и, следовательно, в снижении уровня цитоплазматической активности чрезвычайно токсичной системы H_2O_2 – МПО – галогены/АФГ>.

Замечено, что, как и у нейтрофилов, цитотоксич-

ская активность эозинофилов в значительной мере связана с экзоцитозом АФК, опосредованным NADPH-зависимым восстановлением кислорода до супероксид-аниона O_2^{2-} . У пациентов с БА высвобождение супероксид-аниона из эозинофилов, дегранулирующих при респираторном взрыве, происходит более интенсивно, чем из нейтрофилов [21]. В данном контексте уместно вспомнить о синергическом взаимодействии нейтрофилов и эозинофилов и о способности гранулоцитов к взаимному потенцированию: эозинофилы стимулируют эффекты нейтрофилов [22], нейтрофилы – эозинофилов [23]. К репрезентативным молекулам, экспрессируемым нейтрофилами и активирующими эозинофилы, относятся MMP-9, LTB 4, PAF и TNF α [23]. Продуцируемый эозинофилами CXCL8 / IL-8 является хемокином для нейтрофилов, обуслов-

ливающим рекрутинг нейтрофилов в очаг воспаления [22].

Как установлено, индуцированное IL-8 рекрутирование нейтрофилов в дыхательные пути больных БА, преимущественно неконтролируемого течения, приводит к усиленной экспрессии MMP-9, LTB 4, PAF и свободных радикалов, что вызывает трансбазальное мембранные перемещение и накопление эозинофилов [4]. Развивающиеся эозинофилия и ремоделирование дыхательных путей усугубляют тяжесть заболевания, на что указывает положительная корреляция между комбинированным приростом числа нейтрофилов и эозинофилов в ИМ и выраженностю клинических симптомов при тяжелой БА [23]. Активация миграции эозинофилов регулируется комплексным взаимодействием нейтрофилов с IL-8, ассоциирующимся с патогенетическими элементами неэозинофильной астмы [24], сочетанием бронхиального нейтрофильного и системного воспаления [25, 26], праймированием респираторного взрыва нейтрофилов и предактивацией респираторных реакций клеток [11, 12].

В обзоре P.Arora et al. [6], посвящённом роли различных медиаторов в патогенезе воспаления при БА, увеличение концентрации IL-8 в мокроте пациентов с тяжелой формой болезни связывается не только с её нейтрофильным эндотипом и Th-17 сигнальными путями, индуцирующими секрецию G-CSF из макрофагов и фибробластов с целью дифференцировки клеток-предшественников в нейтрофилы и рекрутинг нейтрофилов в бронхи путём экспрессии CXCL8 [4], но и с повышенным уровнем оксидативного стресса в дыхательных путях. Медиаторами нейтрофилов, вызывающими развитие астматического воспаления и бронхоспазма, называются PAF, тромбоксаны, лейкотриены, протеазы, первостепенное значение среди которых отводится нейтрофильной эластазе [4], а также кислородные радикалы.

Супероксид-анион O_2^{2-} , пероксид водорода H_2O_2 и IL-8 выступают в роли провоспалительных стимуляторов продукции высокоактивных NETs [4, 27], количественно коррелирующих с уровнем IL-17 и нейтрофилией бронхоальвеолярного лаважа при БА [7, 28]. К стартовыми механизмам формирования NETs принадлежат праймирование нейтрофилов, запуск NADFH-оксидазного ферментного комплекса, респираторного взрыва и образование АФК [27, 29].

По мнению M.F.McCarty et al. [10], активация различных изоформ NADFH-оксидазы в дыхательных путях при БА, непосредственно участвующих в развитии бронхоконстрикции, осуществляется на нескольких клеточных уровнях. В цилиарном эпителии пациентов с нейтрофильным эндотипом астмы усиленно экспрессируются стимулирующие эпителиальную дисфункцию NOX4 и NOX1 NADPH-оксидазы. Повышенная активность NOX4 в гладкомышечных клетках, индуцирующая экспрессию сигнального белка RhoA, контролирующего динамику актинового цитос-

келета, гипертрофическую и пролиферативную активность лейомиоцитов, рассматривается в качестве ключевого звена бронхоспазма. Согласно данным Е.Н.Башиловой и соавт. [9], при обструктивном типе нарушения вентиляции легких увеличивается показатель оптической плотности цитоплазмы гладких миоцитов бронхов, повышается доля миоцитов с высоким уровнем цитоплазматического белка, что обусловлено их трансформацией от контрактильного к синтетическому фенотипу и сопряжено с регенераторно-гиперпластическими процессами, приводящими к резкой структурной перестройке ткани.

На основании вышеизложенного создается отчетливое представление о связи активации NOX4 и NOX1 в эпителии и гладких миоцитах бронхов больных БА при наличии ХГДП с экспрессией компонентов NADFH-оксидазы в нейтрофилах, что ассоциировано с нейтрофильным сегментом воспаления, способствующим увеличению частоты обострений, усугублению клинических проявлений болезни и ограничению возможности достижения контроля над астмой [20]. Вследствие сопряженности нейтрофильного воспаления с тяжелым течением астмы и с присущим пациентам с такой формой болезни терапевтической резистентностью и невосприимчивостью к стандартным методам терапии ИГКС [4, 5], актуальным является поиск путей улучшения стратегии лечения БА нейтрофильного и смешанного фенотипа. Наряду с применением антагонистов IL-17, IL-8, TNF α , ингибиторов образования NETs, протеаз, Rho-ассоциированной протеинкиназы (ROCK) [4, 30], к одному из рекомендуемых вариантов таргетной терапии нейтрофильной астмы относится подбор препаратов, корректирующих провоспалительные эффекты оксидативного стресса и подавляющих активность NADFH-оксидазы [10].

Предложения по применению целевых инновационных подходов таргетной терапии [4, 10, 30] с использованием в комплексном лечении моноклональных антител, нутрицевтиков, антиоксидантов целесообразно отнести и к включенным в наше исследование пациентам с ХГДП, характеризующимся активацией количественного и пероксидазного профиля нейтрофильного компонента гранулоцитарного паттерна воспаления бронхов и не достигавшим хорошего контроля болезни под влиянием стандартной базисной противовоспалительной терапии.

Заключение

Мобилизация нейтрофилов в смешанном паттерне воспаления дыхательных путей больных БА ассоциирована с утяжелением холод-индуцированного бронхоспазма. Увеличение содержания МПО в гранулах нейтрофилов в ответ на действие холодного воздуха направлено на усиление секреции фермента в интерстиций, активизацию его окислительной деятельности в дыхательных путях и эскалацию оксидативного/га-

логенирующего стресса, сопровождающего бронхоспазм.

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. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с. ISBN: 978-5-8044-1220-4. EDN: POBRZA.
2. Пирогов А.Б., Колосов В.П., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Гассан Д.А., Малыцева Т.А. Особенности воспалительных паттернов бронхов и клинико-функциональная характеристика тяжелой неконтролируемой астмы у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей // Пульмонология. 2016. Т.26, №6. С.701–707. EDN: XXMMEP. <https://doi.org/10.18093.086901892016266701707>
3. Hastie A.T., Moore W.C., Meyers D.A., Vestal P.L., Li H., Peters S.P., Bleeker E.R. Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes // J. Allergy Clin. Immunol. 2010. Vol.125, Iss.5. P.1028–1036. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.008>
4. Gao H., Ying S., Dai Y. Pathological roles of neutrophil-mediated inflammation in asthma and its potential for therapy as a target // J. Immunol. Res. 2017. Vol. 2017. Article number: 3743048. <https://doi.org/10.1155/2017/3743048>
5. Ray A., Kolls J.K. Neutrophilic inflammation in asthma and association with disease severity // Trends Immunol. 2017. Vol.38, Iss.12. P.942–954. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.07.003>
6. Arora P., Ansari S. Role of various mediators in inflammation of asthmatic airways // Asthma – Biological Evidences [Internet] / Pereira C., editor. London: IntechOpen, 2019 [cited 2022 Oct 21]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/66708>. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84357>
7. Duvall M.G., Krishnamoorthy N., Levy B.D. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasm and maintained by defective resolution // Allergol. Int. 2019. Vol.68, Iss.2. P.143–149. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2018.11.006>
8. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Гранулоциты бронхов в развитии деструкции эпителия и окислительной модификации липидов у больных бронхиальной астмой с холодовой и осмотической гиперреактивностью дыхательных путей // Сибирский научный медицинский журнал. 2021. Т.41, №2. С.40–48. EDN: ACEORT. <https://doi.org/10.18699.SSMJ20210206>
9. Башилова Е.Н., Зашихин А.Л., Агафонов Ю.В. К вопросу о клеточных механизмах реактивности гладкой мышечной ткани некоторых висцеральных органов // Экология человека. 2014. Т.21, №11. С.20–25. <https://hum-ecol.ru/1728-0869/article/view/17184/13717>
10. McCarty M.F., DiNicolantonio J.J., Lerner A. Review – Nutraceuticals can target asthmatic bronchoconstriction: NADPH oxidase-dependent oxidative stress, RhoA and calcium dynamics // J. Asthma Allergy. 2021. Vol.14. P.685–701. <https://doi.org/10.2147/JAA.S307549>
11. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., McLaughlin N.J.D., Banerjee A., Silliman C.C. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation // J. Leukoc. Biol. 2005. Vol.78, Iss.5. P.1025–1042. <https://doi.org/10.1189/jlb.0804442>
12. Gougerot-Pocidalo M.A., Benna J., Elbim C., Chollet-Martin S., Dang M.C. Regulation of human neutrophil oxidative burst by pro- and anti-inflammatory cytokines // J. Soc. Biol. 2002. Vol.196, Iss.1. P.37–46.
13. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания // Пульмонология. 2012. Т.22, №1. С.5–10. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10>
14. Маянский А.Н. НАДФ-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция // Цитокины и воспаление. 2007. Т.6, №3. С.3–13. EDN: RZMMRB.
15. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры // Вестник РАМН. 2010. №1. С.27–39. EDN: MBCLFX.
16. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2022 update). URL: www.ginasthma.org
17. Djukanovic R., Sterk P.J., Fahy J.V., Hargreave F.E. Standardised methodology of sputum induction and processing // Eur. Respir. J. 2002. Vol.20, Iss.37. P.1–2. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00000102>
18. Хейхоу Ф.Г. Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия: пер. с англ. / под ред. Н.С. Кисляк. М.: Медицина, 1983. 318 с.
19. Перельман Ю.М., Наумов Д.Е., Приходько А.Г., Колосов В.П. Механизмы и проявления осмотической ги-

перреактивности дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2016. 240 с. ISBN: 978-5-8044-1627-1

20. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Афанасьева Е.Ю., Шелудько Е.Г., Горчакова Я.Г., Чжоу С., Ли Ц., Перельман Ю.М. Обострение астмы и нейтрофильный сегмент воспаления бронхов у пациентов с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей // Бюллетень сибирской медицины. 2021. Т.20, №2. С.71–78. EDN: DMAHEE. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-71-78>

21. Lacy P., Abdel-Latif D., Steward M., Musat-Marcu S., Paul Man S.F., Moqbel R. Divergence of mechanisms regulating respiratory burst in blood and sputum eosinophils and neutrophils from atopic subjects // J. Immunol. 2003. Vol.170, Iss.5. P.2670–2679. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.5.2670>

22. Davoine F., Lacy P. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity // Front. Immunol. 2014. Vol.5. Article number: 570. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00570>

23. Kikuchi I., Kikuchi S., Kobayashi T., Hagiwara K., Sakamoto Y., Kanazawa M., Nagata M. Eosinophil trans-base-membrane migration induced by interleukin-8 and neutrophils // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 2006. Vol.34, Iss.6. P.760–765. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2005-0303OC>

24. Gibson P.G., Simpson J., Saltos N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8 // Chest. 2001. Vol.119, Iss.5. P.1329–1336. <https://doi.org/10.1378/chest.119.5.1329>

25. Puthothu B., Krueger M., Heinze J., Forster J., Heinzmann A. Impact of IL8 and IL8-receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections // Clin. Mol. Allergy. 2006. Vol.4. Article number: 2. <https://doi.org/10.1186/1476-7961-4-2>

26. Wood L.G., Baines K.J., Fu J., Scott H.A., Gibson P.G. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma // Chest. 2012. Vol.142, Iss.1. P.86–93. <https://doi.org/10.1378/chest.11-1838>

27. von Köckritz-Blickwede M., Nizet V. Innate immunity turned inside-out: antimicrobial defense by phagocyte extracellular traps // J. Mol. Med. 2009. Vol.87, Iss.8. P.775–783. <https://doi.org/10.1007/s00109-009-0481-0>

28. Krishnamoorthy N., Douda D.N., Brüggemann T. R., Ricklefs I., Duvall M.G., Abdulkadir R.E., Martinod K., Tavares L., Wang X., Cernadas M., Israel E., Mauger D.T., Bleeker E.R., Castro M., Erzurum S. C., Gaston B.M., Jarjour N.N., Wenzel S., Duncan E., Fahy J.V., Irimia D., Wagner D.D., Levy B.D. Neutrophil cytoplasmic granules induce TH17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma // Sci. Immunol. 2018. Vol.3, Iss.26. Article number: eaao4747. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aao4747>

29. Steinberg B.E., Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death // Sci. STKE. 2007. Vol. 2007, Iss.379. pe11. <https://doi.org/10.1126/stke.3792007pe11>

30. Chetty A., Nielsen H.C. Review – Targeting airway smooth muscle hypertrophy in asthma: An approach whose time has come // J. Asthma Allergy. 2021. Vol.14. P.539–556. <https://doi.org/10.2147/JAA.S280247>

REFERENCES

1. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. [Airway hyperresponsiveness]. Vladivostok: Dal'nauka; 2011 (in Russian). ISBN: 978-5-8044-1220-4
2. Pirogov A.B., Kolosov V.P., Perelman Yu.M., Prikhod'ko A.G., Zinov'ev S.V., Gassan D.A., Mal'tseva T.A. [Airway inflammation patterns and clinical and functional features in patients with severe uncontrolled asthma and cold-induced airway hyperresponsiveness]. *Pulmonologiya* 2016; 26(6):701–707 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/086901892016266701707>
3. Hastie A.T., Moore W.C., Meyers D.A., Vestal P.L., Li H., Peters S.P., Bleeker E.R. Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 125(5):1028–1036. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.008>
4. Gao H., Ying S., Dai Y. Pathological roles of neutrophil-mediated inflammation in asthma and its potential for therapy as a target. *J. Immunol. Res.* 2017; 2017:3743048. <https://doi.org/10.1155/2017/3743048>
5. Ray A., Kolls J.K. Neutrophilic inflammation in asthma and association with disease severity. *Trends Immunol.* 2017; 38(12):942–954. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.07.003>
6. Arora P., Ansari S. Role of various mediators in inflammation of asthmatic airways. In: Pereira C., editor. *Asthma – Biological Evidences* [Internet]. London: IntechOpen; 2019 [cited 2022 Oct 21]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/66708>. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84357>
7. Duvall M.G., Krishnamoorthy N., Levy B.D. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasmic granules and maintained by defective resolution. *Allergol. Int.* 2019; 68(2):143–149. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2018.11.006>
8. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M. [Bronchial granulocytes in the development of epithelial destruction and oxidative lipid modification in patients with bronchial asthma with cold and osmotic airway hyperresponsiveness]. *Siberian Scientific Medical Journal* 2021; 41(2):40–48 (in Russian). <https://doi.org/10.18699.SSMJ20210206>
9. Bashilova E., Zashikhin A., Agaphonov Yu. [Cellular mechanisms of reactivity of airway and urinary system smooth

- muscle]. *Human Ecology* 2014; 21(11):20–25 (in Russian). <https://hum-ecol.ru/1728-0869/article/view/17184/13717>
10. McCarty M.F., DiNicolantonio J.J., Lerner A. Review – Nutraceuticals can target asthmatic bronchoconstriction: NADPH oxidase-dependent oxidative stress, RhoA and calcium dynamics. *J. Asthma Allergy* 2021; 14:685–701. <https://doi.org/10.2147/JAA.S307549>
11. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., McLaughlin N.J.D., Banerjee A., Silliman C.C. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 78(5):1025–1042. <https://doi.org/10.1189/jlb.0804442>
12. Gougerot-Pocidalo M.A., Benna J., Elbim C., Chollet-Martin S., Dang M.C. [Regulation of human neutrophil oxidative burst by pro- and anti-inflammatory cytokines]. *J. Soc. Biol.* 2002; 196(1):37–46 [in French]. PMID: 12134631
13. Soodaeva S.K. [Free radical mechanisms of injury in respiratory disease]. *Pulmonologiya* 2012; (1):5–10 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10>
14. Mayansky A.N. [NADPH-oxidase of neutrophils: activation and regulation]. *Tsitokiny i Vospalenie* 2007; 6(3):3–13 (in Russian).
15. Panasenko O.M., Sergienko V.I. [Halogenizing stress and its biomarkers]. *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk* 2010; (1):27–39 (in Russian). PMID: 20408436
16. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2022 update). Available at: www.ginasthma.org
17. Djukanovic R., Sterk P.J., Fahy J.V., Hargreave F.E. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur. Respir. J.* 2002; 20(37):1s–2s. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.000001022>
18. Hayhoe F.G.J., Quaglino D. [Haematological cytochemistry]. Moscow: Meditsina; 1983 (in Russian).
19. Perelman J.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
20. Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Afanaseva E.Yu., Sheludko E.G., Gorchakova Ya.G., Zhou X., Li Q., Perelman J.M. [Exacerbation of asthma and neutrophil-dominated airway inflammation in patients with cold-induced airway hyperresponsiveness]. *Bulletin of Siberian Medicine* 2021; 20(2):71–78 (in Russian). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-71-78>
21. Lacy P., Abdel-Latif D., Steward M., Musat-Marcu S., Paul Man S.F., Moqbel R. Divergence of mechanisms regulating respiratory burst in blood and sputum eosinophils and neutrophils from atopic subjects. *J. Immunol.* 2003; 170(5):2670–2679. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.5.2670>
22. Davoine F., Lacy P. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Front. Immunol.* 2014; 5:570. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00570>
23. Kikuchi I., Kikuchi S., Kobayashi T., Hagiwara K., Sakamoto Y., Kanazawa M., Nagata M. Eosinophil trans-base-membrane migration induced by interleukin-8 and neutrophils. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2006; 34(6):760–765. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2005-0303OC>
24. Gibson P.G., Simpson J., Saltos N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. *Chest* 2001; 119(5):1329–1336. <https://doi.org/10.1378/chest.119.5.1329>
25. Puthothu B., Krueger M., Heinze J., Forster J., Heinzmann A. Impact of IL8 and IL8-receptor alpha polymorphisms on the genetics of bronchial asthma and severe RSV infections. *Clin. Mol. Allergy* 2006; 4:2. <https://doi.org/10.1186/1476-7961-4-2>
26. Wood L.G., Baines K.J., Fu J., Scott H.A., Gibson P.G. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. *Chest* 2012; 142(1):86–93. <https://doi.org/10.1378/chest.11-1838>
27. von Köckritz-Blickwede M., Nizet V. Innate immunity turned inside-out: antimicrobial defense by phagocyte extracellular traps. *J. Mol. Med.* 2009; 87(8):775–783. <https://doi.org/10.1007/s00109-009-0481-0>
28. Krishnamoorthy N., Douda D.N., Brüggemann T. R., Ricklefs I., Duvall M.G., Abdulnour R.E., Martinod K., Tavares L., Wang X., Cernadas M., Israel E., Mauger D.T., Bleeker E.R., Castro M., Erzurum S. C., Gaston B.M., Jarjour N.N., Wenzel S., Dunican E., Fahy J.V., Irimia D., Wagner D.D., Levy B.D. Neutrophil cytoplasm induce TH17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma. *Sci. Immunol.* 2018; 3(26):eaao4747. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aao4747>
29. Steinberg B.E., Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death. *Sci. STKE* 2007; 2007(379):pe11. <https://doi.org/10.1126/stke.3792007pe11>
30. Chetty A., Nielsen H.C. Review – Targeting airway smooth muscle hypertrophy in asthma: An approach whose time has come. *J. Asthma Allergy* 2021; 14:539–556. <https://doi.org/10.2147/JAA.S280247>

Информация об авторах:

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dncfpd@dncfpd.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

Юлий Михайлович Перельман, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: jperelman@mail.ru

Author information:

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Senior Staff Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.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

Juliy M. Perelman, MD, PhD, DSc (Med.), Corresponding member of RAS, Professor, Deputy Director on Scientific Work, Head of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: jperelman@mail.ru

*Поступила 26.10.2022
Принята к печати 10.11.2022*

*Received October 26, 2022
Accepted November 10, 2022*

УДК 616.248-053.2:616-08-07]576.311.347:612.017.1:612.118.24

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-50-55

ОЦЕНКА МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КОНТРОЛИРУЕМОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Е.Н.Супрун

Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, 680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская 49, корп. 1

РЕЗЮМЕ. Цель. Изучение функционального состояния иммунокомпетентных клеток крови (ИКК) посредством оценки мембранных потенциала митохондрий (МПМ) при бронхиальной астме (БА) у детей в зависимости от контролируемости течения заболевания. **Материалы и методы.** Обследовано 167 детей, страдающих БА, в возрасте от 1 до 17 лет, сформировано две группы: 1 – контролируемое течение БА ($n=70$), 2 – частично контролируемое и неконтролируемое течение БА ($n=97$). Оценка функционально-энергетического статуса ИКК проводилась методом проточной цитометрии с определением МПМ, использованием красителя JC-1. **Результаты.** Доля клеток со сниженным МПМ у больных БА в сравнении с условно здоровыми детьми была выше во всех пулах: лимфоцитах (46,1% против 34,0%), моноцитах (12,0% против 9,0%), гранулоцитах (11,3% против 7,0%). Обнаружен более высокий процент клеток со сниженным МПМ в пулах моноцитов (15,4% против 8,8%) и гранулоцитов (13,8% против 6,7%) при неконтролируемом течении БА. Разработан и запатентован «Способ комплексной оценки энергетической обеспеченности иммунокомпетентных клеток крови». Согласно этой методике установлены степени энергетического дефицита, релевантные контролю течения БА: в 1 группе энергетический дефицит отсутствует в 12,9% случаев, первая степень дефицита в 40%; вторая – в 20%, третья – в 27,1%; во второй группе – 11,3, 15,5, 42,2 и 31,0% случаев, соответственно. **Заключение.** Использование разработанного способа комплексной оценки энергетической обеспеченности ИКК крови, как дополнительного к утвержденным медицинским стандартам метода, выполненного технически в быстрые сроки и с высокой точностью, позволяет провести раннюю доклиническую диагностику энергетически дефицитных состояний ИКК при БА; по степени выявленных нарушений обоснованно определить выбор, объем необходимой терапии и оценить эффективность лечения.

Ключевые слова: иммунокомпетентные клетки крови, мембранный потенциал митохондрий, дети, бронхиальная астма, контроль течения астмы.

ASSESSMENT OF THE MEMBRANE POTENTIAL OF MITOCHONDRIA IN IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS OF CHILDREN WITH ASTHMA, DEPENDING ON CONTROLLABILITY OF THE COURSE OF THE DISEASE

E.N.Suprun

Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Maternity and Childhood Protection, 49/1 Voronezhskaya Str., Khabarovsk, 680022, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To study the functional state of immunocompetent blood cells by assessing the membrane potential of mitochondria (MPM) in bronchial asthma in children, depending on the controllability of the course of the disease. Materials and methods. 167 children suffering from asthma aged from 1 to 17 years were examined, two groups were

Контактная информация

Евгений Николаевич Супрун, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, группа медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка, Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, 680022, Россия, г. Хабаровск, ул. Воронежская 49, корп. 1. E-mail: iomid@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Evgeniy N. Suprun, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist of the Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Maternity and Childhood Protection, 49/1 Voronezhskaya Str., Khabarovsk, 680022, Russian Federation. E-mail: iomid@yandex.ru

Для цитирования:

Супрун Е.Н. Оценка мембранных потенциала митохондрий иммунокомпетентных клеток крови при бронхиальной астме у детей в зависимости от контролируемости течения заболевания // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.50–55. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-50-55

For citation:

Suprun E.N. Assessment of the membrane potential of mitochondria in immunocompetent blood cells of children with asthma, depending on controllability of the course of the disease. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniā* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):50–55 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-50-55

formed: 1 – controlled course of asthma (n=70), 2 – partially controlled and uncontrolled course of asthma (n=97). The functional and energetic status of immunocompetent blood cells was assessed by flow cytometry with determination of MPM using JC-1 dye. **Results.** The proportion of cells with reduced MPM in children with asthma in comparison with conditionally healthy children is higher in all pools – lymphocytes (46.1% vs. 34.0%), monocytes (12.0% vs. 9.0%), granulocytes (11.3% vs. 7.0%). A higher percentage of cells with reduced MPM was found in the pools of monocytes (15.4% vs. 8.8%) and granulocytes (13.8% vs. 6.7%) with uncontrolled asthma. “Method for a comprehensive assessment of the energy security of immunocompetent blood cells” has been developed and patented. According to this method, the degrees of energy deficiency are relevant to the control of the course of asthma: in group 1, there is no energy deficit in 12.9% of cases, the first degree of deficiency in 40%, the second in 20%, the third in 27.1%; in the second group – 11.3%, 15.5%, 42.2%, 31.0% accordingly. **Conclusion.** The use of the developed method for a comprehensive assessment of the energy security of immunocompetent blood cells as an additional method to the approved medical standards, technically performed in a short time and with high accuracy, makes it possible to conduct early preclinical diagnostics of energy-deficient conditions of immunocompetent blood cells in asthma; according to the degree of disturbances detected, it is reasonable to determine the choice, the amount of necessary therapy and evaluate the effectiveness of treatment.

Key words: immunocompetent blood cells, mitochondrial membrane potential, children, bronchial asthma, asthma control.

Бронхиальная астма (БА) – мультифакториальное заболевание, поэтому причины неконтролируемого течения весьма разнообразны, в ее основе всегда лежит воспаление. Непосредственными факторами воспаления являются иммунокомпетентные клетки, изменения их популяций и субпопуляций в крови при БА изучены достаточно подробно [1–7]. Однако большой интерес представляет не только количественное содержание и соотношение иммунокомпетентных клеток крови при БА, но и их функциональное состояние, одним из методов определения такого состояния является оценка мембранныго потенциала митохондрий (МПМ) [8, 9]. Изучению данного показателя применительно к БА посвящены лишь единичные работы, в частности в одной из зарубежных работ выявлено снижение МПМ у больных с БА в сравнении со здоровыми лицами [10]. Подобные данные подтверждаются и в отечественных исследованиях [11, 12]. Но в этих работах нет разделения иммунокомпетентных клеток по популяциям и не рассматривались вопросы изменения МПМ в зависимости от тяжести и контролируемости БА.

Целью настоящего исследования явилось изучение функционального состояния иммунокомпетентных клеток крови посредством оценки МПМ при БА у детей в зависимости от контролируемости течения заболевания.

Материалы и методы исследования

Работа проведена на базе клиники (педиатрическое и консультативно-диагностическое отделение) и лаборатории комплексных методов исследований бронхолегочной и перинатальной патологии Хабаровского филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательского института охраны материнства и детства в период с 2017 по 2021 гг. Обследовано 167 страдающих БА детей в возрасте от 1 до 17 лет, проживающих в Дальневосточном федеральном округе (Хабаровский край, Еврейская автономная область,

Амурская область); из них 54% – горожане, 46% проживают в сельской местности; средний возраст детей составил $7,3 \pm 1,6$ года; 55% – мальчики, 45% – девочки; у 40% из них была легкая степень БА, у 48% средней тяжести и у 12% тяжелая астма; средний астматический стаж на момент поступления по данным анамнеза составил $42 \pm 7,1$ месяцев. Критерии включения: установленный диагноз БА, наличие доказательства ее атопического генеза (сенсибилизация к респираторным аллергенам). Критерии исключения: наличие иных бронхолегочных патологий и острых инфекционных заболеваний на момент обследования. В результате сформированы две группы детей: 1 – контролируемое течение астмы (70 пациентов), 2 – частично контролируемое и неконтролируемое течение БА (97 пациентов) согласно критериям Клинических рекомендаций [13]. Группу сравнения составили 40 условно здоровых детей, релевантных основной группе по полу и возрасту.

Оценка функционально-энергетического статуса иммунокомпетентных клеток периферической крови проводилась методом иммунофенотипирования с определением МПМ на основе регистрации локальных изменений трансмембранныго электрохимического потенциала и визуализации митохондрий с низким и высоким потенциалами мембранны. Количество клеток со сниженным МПМ в общей популяции лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов периферической крови определяли на цитометре BD FACSCalibur (США) в программе CellQuest Pro в гепаринизированной крови с использованием красителя JC-1 ($5,5',6,6'$ -тетрахлор- $1,1',3,3'$ тетраэтилбензимида-золкарбоцанин иодид/хлорид) (Becton Dickinson, США), который является катионным красителем, его поглощение митохондриями напрямую связано с величиной МПМ. Единица измерения энергообеспеченности иммунокомпетентных клеток крови – это процент клеток со сниженным МПМ каждого пул (лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов).

При статистическом анализе результатов исследо-

вания использовались стандартные методы вариантовой статистики с применением пакета статистических программ STATISTICA для Windows (версия 10.0). Проверка на нормальность распределения показателей проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Проверку статистической гипотезы равенства групповых средних проводили по t-критерию Стьюдента (двухвыборочный t-критерий). Кроме того, оценивалась достоверная разница долей в исследуемых группах. При описании достоверности результатов статистического анализа было использовано выражение « $p<0,05$ ».

Исследования проводились в соответствии с принципами текущего пересмотра Хельсинкской декларации (64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October, 2013). Все манипуляции проводились с персонального добровольного информированного согласия исследуемых и/или их законных представителей, во всех таблицах статистической обработки, кроме первичной, обследуемые представлены под порядковыми

номерами. Электронная таблица Excel с первичными данными хранилась под защитой пароля и была доступна только участникам исследования. Дизайн исследования утвержден этическим комитетом Научно-исследовательского института охраны материнства и детства, протокол №5 от 14.05.2017 г.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании МПМ иммунокомпетентных клеток крови у детей с БА и в группе сравнения обнаружено, что для детей с БА вообще характерна большая доля иммунокомпетентных клеток со сниженным МПМ во всех популяциях (табл. 1). При сравнении МПМ иммунокомпетентных клеток крови у пациентов с контролируемой и неконтролируемой астмой установлено, что для детей с неконтролируемым течением заболевания характерна большая доля всех типов иммунокомпетентных клеток с пониженным МПМ (табл. 2).

Таблица 1

Частота встречаемости (%) иммунокомпетентных клеток крови со сниженным МПМ у детей с БА и в группе сравнения

Иммунокомпетентные клетки крови	Группа сравнения (n=40)	Дети с БА (n=167)	p
Лимфоциты	34,0	46,1	0,049
Моноциты	9,0	12,0	0,22
Гранулоциты	7,0	11,3	0,11

Таблица 2

Частота встречаемости (%) иммунокомпетентных клеток крови со сниженным МПМ у детей с контролируемой и неконтролируемой БА

Иммунокомпетентные клетки крови	Контролируемая БА (n=70)	Неконтролируемая БА (n=97)	p
Лимфоциты	40,6	49,2	0,049
Моноциты	8,8	15,4	0,22
Гранулоциты	6,7	13,8	0,11

При этом доля лимфоцитов со сниженным МПМ выше при БА в любом случае, а доля моноцитов и гранулоцитов практически равна таковой в группе сравнения и при контролируемой БА (9,0% против 8,8% и 7,0% против 6,7%, соответственно), но резко увеличивается при неконтролируемой БА – моноциты 15,4%, гранулоциты 13,8%. Это еще раз подтверждает важность местного воспаления именно для неконтролируемого течения БА.

Полученные данные показали значимость энергообеспеченности иммунокомпетентных клеток крови для понимания патогенеза воспалительного процесса при БА и возможность их использования в ранней диагностике и прогнозе вероятных путей его развития, но, поскольку данный метод является относительно новым и пока не нашел широкого применения в кли-

нической практике, определенную сложность представляет правильная оценка и интерпретация полученных при измерении МПМ иммунокомпетентных клеток крови результатов. Ранее было установлено, что увеличение количества лейкоцитов со сниженным МПМ указывает на уменьшение их энергообеспечения, кислородное голодание и предрасположенность к развитию клеточной гипоксии [11, 12, 14]. Известен и способ диагностики нарушения энергетического метаболизма лимфоцитов у детей, который заключался в определении степени нарушений энергообеспеченности по проценту лимфоцитов со сниженным МПМ (Патент RU2579317C1; <https://patents.google.com/patent/RU2579317C1/tu>), однако эти методики распространялись лишь на одну из популяций иммунокомпетентных клеток крови, либо на весь их

пуль в целом, и не касались больных БА. Поэтому нами были проанализированы изменения МПМ в конкретных популяциях иммунокомпетентных клеток крови (лимфоциты, моноциты, гранулоциты) у детей с БА, полученные результаты легли в основу разработанного и защищенного патентом способа комплексной оценки энергообеспеченности иммунокомпетентных клеток крови.

На основании полученных результатов были рассчитаны групповые диапазоны значений, сниженных МПМ для детей (лимфоциты – более 35%, гранулоциты – более 3%, моноциты – более 5%). В зависимости от сочетания иммунокомпетентных клеток крови

со сниженным МПМ выделяются 3 степени энергодефицита: первая степень – моновариантные композиции иммунокомпетентных клеток крови (лимфоциты, или гранулоциты, или моноциты); вторая степень энергодефицита – одновременные бивариационные композиции (лимфоциты и гранулоциты, или лимфоциты и моноциты, или гранулоциты и моноциты); третья степень дефицита энергообеспеченности иммунокомпетентных клеток крови – одномоментное увеличение количества клеток со сниженным МПМ всех типов (лимфоциты, гранулоциты и моноциты). Была проведена оценка этих показателей в группах с контролируемым и неконтролируемым течением БА (табл. 3).

Таблица 3

Частота встречаемости (%) различных степеней энергообеспеченности иммунокомпетентных клеток крови у детей с БА

Степень энергодефицита	Типы иммунокомпетентных клеток крови	Контролируемая БА (n=70)	Неконтролируемая БА (n=97)	p
0 степень		12,9	11,3	0,421
1 степень		40	15,5	0,0002
	лимфоциты	26,7	3,8	0,0001
	гранулоциты	13,3	7,9	0,121
	моноциты	0	3,8	0,049
2 степень		20	42,2	0,001
	лимфоциты/гранулоциты	13,3	11,6	0,371
	лимфоциты/моноциты	0	30,6	0,0001
	гранулоциты/моноциты	7,7	0	0,003
3 степень		27,1	31,0	0,297

Наибольшие и достоверные различия определяются для первой и второй степени энергодефицита иммунокомпетентных клеток крови: при контролируемом течении БА первая степень выявляется в 40% случаев, а при неконтролируемом лишь в 15,5%, вторая степень – в 20 и 42,2%, соответственно (табл. 3). Для отсутствия энергодефицита и его третьей степени достоверных различий в этих группах не обнаружено, хотя при контролируемой астме энергодефицит чаще отсутствует (12,9 против 11,3%), а его третья степень встречается реже (27,9 против 31,0%), то есть сохраняется направленность к более тяжелому энергодефициту при неконтролируемой БА. При этом первая и вторая степень энергодефицита при контролируемой БА чаще связана с поражением лимфоцитов, а при неконтролируемой – с поражением гранулоцитов и моноцитов, что подтверждает ранее полученные данные о роли местного воспаления в патогенезе БА.

Заключение

Таким образом, в результате исследований опреде-

лено, что МПМ во всех пулах иммунокомпетентных клеток крови – лимфоцитах, моноцитах и гранулоцитах снижен в группе детей с БА в сравнении с условно здоровыми лицами. При сравнении этого показателя в группах контролируемой и неконтролируемой БА достоверных различий для лимфоцитов не выявлено, но обнаружено достоверное снижение МПМ в пулах моно- и гранулоцитов, что говорит об особой роли местного воспаления при неконтролируемом течении астмы. Оценка изменения МПМ иммунокомпетентных клеток крови позволяет на более ранней стадии выявлять нарушения их функционирования, но сам метод в настоящее время не является рутинным, и оценка его результатов в применении к конкретному больному часто вызывает определенные затруднения, в связи с чем был разработан и запатентован «Способ комплексной оценки энергообеспеченности иммунокомпетентных клеток крови» (Патент RU2766747; <https://findpatent.ru/patent/276/2766747.html>). Степени энергодефицита, установленные согласно этой методике, релевантны степени контроля БА. Использование

разработанного способа комплексной оценки энергобез обеспеченности иммунокомпетентных клеток крови как дополнительного к утвержденным медицинским стандартам метода, выполненного технически в быстрые сроки и с высокой точностью, позволяет провести раннюю доклиническую диагностику энергодефицитных состояний иммунокомпетентных клеток крови при БА; по степени выявленных нарушений возможно обоснованно определить выбор, объем необходимой терапии и оценить эффективность лечения.

Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Nguyen-Thi-Dieu T., Le-Thi-Thu H., Duong-Quy S. The profile of leucocytes, CD3+, CD4+, and CD8+ T cells, and cytokine concentrations in peripheral blood of children with acute asthma exacerbation // J. Int. Med. Res. 2017. Vol.45, Iss.6. P.1658–1669. <https://doi.org/10.1177/0300060516680439>
2. Huber M., Lohoff M. Change of paradigm: CD8+ T cells as important helper for CD4+ T cells during asthma and autoimmune encephalomyelitis // Allergo J. Int. 2015. Vol.24, Iss.1. P.8–15. <https://doi.org/10.1007/s40629-015-0038-4>
3. Lourenço O., Fonseca A.M., Taborda-Barata L. Human CD8+ T Cells in Asthma: Possible Pathways and Roles for NK-Like Subtypes // Front. Immunol. 2016. Vol.7. Article number: 638. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00638>
4. Kim J.H., Jang Y.J. Role of Natural Killer Cells in Airway Inflammation // Allergy Asthma Immunol. Res. 2018. Vol.10, Iss.5. P.448–456. <https://doi.org/10.4168/aaair.2018.10.5.448>
5. Hilvering B., Hinks T.S.C., Stöger L., Marchi E., Salimi M., Shrimanker R., Liu W., Chen W., Luo J., Go S., Powell T., Cane J., Thulborn S., Kurioka A., Leng T., Matthews J., Connolly C., Borg C., Bafadhel M., Willberg C.B., Ramasamy A., Djukanović R., Ogg G., Pavord I.D., Klenerman P., Xue L. Synergistic activation of pro-inflammatory type-2 CD8+ T lymphocytes by lipid mediators in severe eosinophilic asthma // Mucosal Immunol. 2018. Vol.11, Iss.5. P.1408–1419. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0049-9>
6. Pascual M., Suzuki M., Isidoro-Garcia M., Padrón J., Turner T., Lorente F., Dávila I., Greally J.M. Epigenetic changes in B lymphocytes associated with house dust mite allergic asthma // Epigenetics. 2011. Vol.6, Iss.9. P.1131–1137. <https://doi.org/10.4161/epi.6.9.16061>
7. Luo J., Guo H., Liu Z., Peng T., Hu X., Han M., Yang X., Zhou X., Li H. Analysis of Peripheral B Cell Subsets in Patients With Allergic Rhinitis // Allergy Asthma Immunol. Res. 2018. Vol.10, Iss.3. P.236–243. <https://doi.org/10.4168/aaair.2018.10.3.236>
8. Фрелих Г.А., Поломеева Н.Ю., Васильев А.С., Удут В.В. Современные методы оценки функционального состояния митохондрий // Сибирский медицинский журнал (Томск). 2013. Т.28, №3. С.7–13. EDN: TUJJHZ.
9. Angajala A., Lim S., Phillips J.B., Kim J.H., Yates C., You Z., Tan M. Diverse roles of mitochondria in immune responses: novel insights into immuno-metabolism // Front. Immunol. 2018. Vol.9. Article number: 1605. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01605>
10. Vodounon C.A., Chabi C.B., Skibo Y.V., Ezin V., Aikou N., Kotchoni S.O., Akpona S.A., Baba-Moussa L., Abramova Z.I. Influence of the programmed cell death of lymphocytes on the immunity of patients with atopic bronchial asthma // Allergy Asthma Clin. Immunol. 2014. Vol.10, Iss.1. Article number: 14. <https://doi.org/10.1186/1710-1492-10-14>
11. Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Кондратьева Е.В., Жукова Н.В., Антонюк М.В., Кнышова В.В., Минеева Е.Е.. Морфофункциональное состояние митохондрий клеток крови при бронхиальной астме // Клиническая медицина. 2015. Т.93, №10. С.47–51. EDN: UYABQN.
12. Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Антонюк М.В., Гвозденко Т.А., Жукова Н.В., Виткина Т.И., Гельцер Б.И. Патогенетические особенности мембранных нарушений иммунокомпетентных клеток при сочетанном течении бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких // Пульмонология. 2018. Т.28, №6. С.647–654. EDN: RAJVWP. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-6-647-654>
13. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы. М.: Российское респираторное общество, 2021. URL: https://www.spulmo.ru/upload/kr/BA_2021.pdf
14. Ляпина С.А., Федотова Г.Г. Реактивные изменения нейтрофилов при бронхолегочных заболеваниях // Современные проблемы науки и образования. 2018. №6. С.66. EDN: YVMKOT.

REFERENCES

1. Nguyen-Thi-Dieu T., Le-Thi-Thu H., Duong-Quy S. The profile of leucocytes, CD3+, CD4+, and CD8+ T cells, and cytokine concentrations in peripheral blood of children with acute asthma exacerbation. *J. Int. Med. Res.* 2017; 45(6):1658–1669. <https://doi.org/10.1177/0300060516680439>
2. Huber M., Lohoff M. Change of paradigm: CD8+ T cells as important helper for CD4+ T cells during asthma and

- autoimmune encephalomyelitis. *Allergo J. Int.* 2015; 24(1):8–15. <https://doi.org/10.1007/s40629-015-0038-4>
3. Lourenço O., Fonseca A.M., Taborda-Barata L. Human CD8+ T Cells in Asthma: Possible Pathways and Roles for NK-Like Subtypes. *Front. Immunol.* 2016; 7:638. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00638>
4. Kim J.H., Jang Y.J. Role of Natural Killer Cells in Airway Inflammation. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2018; 10(5):448–456. <https://doi.org/10.4168/aair.2018.10.5.448>
5. Hilvering B., Hinks T.S.C., Stöger L., Marchi E., Salimi M., Shrimanker R., Liu W., Chen W., Luo J., Go S., Powell T., Cane J., Thulborn S., Kurioka A., Leng T., Matthews J., Connolly C., Borg C., Bafadhel M., Willberg C.B., Ramasamy A., Djukanović R., Ogg G., Pavord I.D., Klenerman P., Xue L. Synergistic activation of pro-inflammatory type-2 CD8+ T lymphocytes by lipid mediators in severe eosinophilic asthma. *Mucosal Immunol.* 2018; 11(5):1408–1419. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0049-9>
6. Pascual M., Suzuki M., Isidoro-Garcia M., Padrón J., Turner T., Lorente F., Dávila I., Greally J.M. Epigenetic changes in B lymphocytes associated with house dust mite allergic asthma. *Epigenetics* 2011; 6(9):1131–1137. <https://doi.org/10.4161/epi.6.9.16061>
7. Luo J., Guo H., Liu Z., Peng T., Hu X., Han M., Yang X., Zhou X., Li H. Analysis of Peripheral B Cell Subsets in Patients With Allergic Rhinitis. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2018; 10(3):236–243. <https://doi.org/10.4168/aair.2018.10.3.236>
8. Frelikh G.A., Polomeeva N.U., Vasil'ev A.S., Udot V.V. [State-of-the art methods of evaluation of mitochondrial function]. *Siberian Medical Journal (Tomsk)* 2013; 28(3):7–13 (in Russian).
9. Angajala A., Lim S., Phillips J.B., Kim J.H., Yates C., You Z., Tan M. Diverse roles of mitochondria in immune responses: novel insights into immuno-metabolism. *Front. Immunol.* 2018; 9:1605. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01605>
10. Vodounon C.A., Chabi C.B., Skibo Y.V., Ezin V., Aikou N., Kotchoni S.O., Akpona S.A., Baba-Moussa L., Abramova Z.I. Influence of the programmed cell death of lymphocytes on the immunity of patients with atopic bronchial asthma. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2014; 10(1):14. <https://doi.org/10.1186/1710-1492-10-14>
11. Denisenko Yu.K., Novgorodtseva T.P., Kondrat'eva E.V., Zhukova N.V., Antonyuk M.V., Knyshova V.V., Mineeva E.E. [Morpho-functional characteristics of blood cell mitochondria in bronchial asthma]. *Klin. Med (Mosk)* 2015; 93(10):47–51 (in Russian). PMID: 26964466.
12. Denisenko Yu.K., Novgorodtseva T.P., Antonyuk M.V., Gvozdenko T.A., Zhukova N.V., Vitkina T.I., Gel'tser B.I. [Pathogenesis of immune cell membrane abnormalities in comorbidity of chronic obstructive pulmonary disease and asthma]. *Pulmonologiya* 2018; 28(6):647–654 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2018-28-6-647-654>
13. [Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of bronchial asthma]. Moscow: Russian Respiratory Society; 2021 (in Russian). Available at: https://www.spulmo.ru/upload/kr/BA_2021.pdf
14. Lyapina S.A., Fedotova G.G. [Reactive changes of neutrophiles in bronchopulmonary diseases]. *Modern problems of science and education* 2018; 6:66 (in Russian).

Информация об авторе:

Евгений Николаевич Супрун, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, группа медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка, Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства; e-mail: iomid@yandex.ru

Author information:

Evgeniy N. Suprun, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist of the Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Maternity and Childhood Protection; e-mail: iomid@yandex.ru

Поступила 14.11.2022
Принята к печати 30.11.2022

Received November 14, 2022
Accepted November 30, 2022

УДК 616.248-053.2:616-037]577.212:612.017.1(001.18)

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-56-61

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕКОНТРОЛИРУЕМОГО ТЕЧЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ НА ОСНОВЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И ГЕНОВ ДЕТОКСИКАЦИИ

Е.Н.Супрун

Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, 680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская 49, корп. 1

РЕЗЮМЕ. Цель. Изучить возможность прогнозирования контроля бронхиальной астмы (БА) на различных этапах развития заболевания на основе учета генетических полиморфизмов Toll-подобных рецепторов, цитокинов и генов системы детоксикации с использованием статистического метода обучающихся нейронных сетей. **Материалы и методы.** Обследовано 167 детей с бронхиальной астмой, определялась степень контроля, методом ПЦР выявляли следующие мутации: TLR2-Arg753Glu, TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G; IL4-C589T, IL6-C174G, IL10-G1082A, IL10-C592A, IL10-C819T, IL12B-A1188C, TNFa-G308A; GSTM, GSTT, GSTM/GSTT, GSTP1 Ile105Val, GSTP1 Ala114Val. Для моделирования нейронных сетей использован пакет STATISTICA Automated Neural Networks. **Результаты.** Модель построена на основе архитектуры многослойного перцептрона MLP (15-9-3) со слоем из 15 входных нейронов (по количеству анализируемых переменных), скрытым промежуточным слоем из 9 нейронов и выходным слоем из 3 нейронов по количеству значений классифицируемой переменной (контроль). Алгоритмом обучения выбран BFGS, как наиболее адекватный задаче классификации. Функция ошибок выбрана традиционно в виде суммы квадратов отклонений. Функция активации выходных нейронов – Softmax. Функция активации промежуточного слоя – гиперболическая. Объем обучающей выборки составил 88 наборов. Объем выборок для тестирования и контроля качества модели составил 36 наборов. В итоге полученная модель смогла предсказать 79,01% правильных значений целевой переменной (степень контроля БА). **Заключение.** Применение разработанной программы позволяет прогнозировать возможность развития неконтролируемой или частично контролируемой БА на любом этапе заболевания, включая доклинический и дононогический для групп с высоким риском развития БА. Это может позволить индивидуально корректировать меры вторичной и даже первичной профилактики БА в рамках персонализации терапевтических подходов.

Ключевые слова: дети, бронхиальная астма, прогнозирование контроля течения астмы, генетические полиморфизмы Toll-подобные рецепторы, цитокины, гены системы детоксикации, статистический метод обучающихся нейронных сетей.

PREDICTION OF UNCONTROLLED COURSE OF BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN BASED ON POLYMORPHISMS OF GENES OF SIGNALING MOLECULES OF THE IMMUNE SYSTEM AND DETOXIFICATION GENES

E.N.Suprun

Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Maternity and Childhood Protection, 49/1 Voronezhskaya Str., Khabarovsk, 680022, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To study the possibility of predicting the asthma control at various stages of the development of

Контактная информация

Евгений Николаевич Супрун, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, группа медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка. Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, 680022, Россия, г. Хабаровск, ул. Воронежская 49, корп. 1. E-mail: iomid@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Evgueniy N. Suprun, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist of the Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Maternity and Childhood Protection, 49/1 Voronezhskaya Str., Khabarovsk, 680022, Russian Federation. E-mail: iomid@yandex.ru

Для цитирования:

Супрун Е.Н. Прогнозирование неконтролируемого течения бронхиальной астмы у детей на основе полиморфизмов генов сигнальных молекул иммунной системы и генов детоксикации. 2022. Вып.86. С.56–61. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-56-61

For citation:

Suprun E.N. Prediction of uncontrolled course of bronchial asthma in children based on polymorphisms of genes of signaling molecules of the immune system and detoxification genes. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhanija* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):56–61 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-56-61

the disease, possibly on the basis of taking into account the genetic polymorphisms of Toll-like receptors, cytokines and detoxification system genes using the statistical method of learning neural networks. **Materials and methods.** We examined 167 children with bronchial asthma. The degree of asthma control was determined, the following mutations were detected: TLR2-Arg753Glu, TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G; IL4-C589T, IL6-C174G, IL10-G1082A, IL10-C592A, IL10-C819T, IL12B-A1188C, TNFa-G308A; GSTM, GSTT, GSTM/GSTT, GSTP1 Ile105Val, GSTP1 Ala114Val, by PCR. The STATISTICA Automated Neural Networks package was used to model neural networks. **Results.** The model is based on the MLP (15-9-3) multilayer perceptron architecture with a layer of 15 input neurons (by the number of analyzed variables), a hidden intermediate layer of 9 neurons and an output layer of 3 neurons by the number of values of the classified variable (control). The training algorithm was chosen by BFGS as the most adequate to the classification task. The error function is traditionally chosen as the sum of squared deviations. The activation function of output neurons is Softmax. The activation function of the intermediate layer is hyperbolic. The volume of the training sample was 88 sets. The volume of samples for testing and quality control of the model was 36 sets. The resulting model was able to predict 79.01% of the correct values of the target variable (the degree of asthma control). **Conclusion.** The application of the developed program makes it possible to predict the possibility of uncontrolled or partially controlled asthma at any stage of the disease, including preclinical and pre-nosological for groups with a high risk of asthma. This allows you to individually adjust the measures of secondary and even primary prevention of asthma within the personalization of therapeutic approaches.

Key words: children, bronchial asthma, asthma control prediction, genetic polymorphisms Toll-like receptors, cytokines, genes of the detoxification system, statistical method of learning neural networks.

Бронхиальная астма (БА) – одно из самых распространенных хронических заболеваний дыхательной системы, как у взрослых, так и у детей. В последние десятилетия отмечается рост распространённости БА и сейчас она достигает 15–18% среди детской популяции населения Земли [1]. Россия [2] и Хабаровский край [3], не составляют исключения из этой тенденции, отмечен двукратный рост распространённости БА среди детей Хабаровского края в период с 2005 по 2020 гг. (подростки – с 12 до 25%, дети до 14 лет – с 11 до 20%). При этом доля больных, у которых достигнут контроль БА, не превышает 30%, полный контроль достигается лишь у 5%. Даже когда базисная терапия осуществляется под непосредственным наблюдением специалистов, согласно принятых схем терапии, с бесплатным предоставлением препаратов, в группе больных БА без значимой сопутствующей патологии полного контроля удается добиться лишь у 34% пациентов, хорошего – у 38% и 28% больных остаётся с неконтролируемым течением патологического процесса [4]. В России имеют место сходные соотношения степеней контроля заболевания [5]. Поэтому именно выявление групп риска и прогнозирование неконтролируемого течения БА является одной из важнейших задач в курении данного заболевания.

Несмотря на то, что БА у детей является мультифакториальным заболеванием и причины ее неконтролируемого течения весьма разнообразны, в основе, особенно у детей, как правило, лежит атопическое воспаление. В свою очередь, атопия является нарушением с полигенным наследованием, поэтому полиморфизмы системы генов, обуславливающих ее реализацию, представляют особый интерес, как базис различной реакции на провоцирующие и терапевтические воздействия в разных группах пациентов, страдающих БА [6–8].

Поскольку в основе атопии вообще и БА в частности лежит нарушение распознавания типа антигена, то

большой интерес для исследования представляют полиморфизмы генов, кодирующих белки распознавания (Toll-подобные рецепторы) [9–11]. Следующим уровнем регуляции любого, в том числе атопического, воспаления является цитокиновая сеть, поэтому не меньший интерес представляют полиморфизмы генов основных коммуникативных молекул иммунитета – цитокинов.

Атопическое воспаление в первую очередь обусловлено врождёнными факторами, однако вероятность и срок их реализации, а также течение заболевания после его начала могут значительно модифицироваться под воздействием разнообразных экзогенных факторов [12–14]. Одним из основных барьеров, защищающих организм от негативных воздействий окружающей среды, является система генов детоксикации. Установлено, что на проявление БА влияют отдельные типы метаболической активности генов детоксикации ксенобиотиков [15–17].

Именно анализ полиморфизмов генов позволяет осуществлять наиболее ранний прогноз развития неконтролируемой БА даже до клинической манифестации самого заболевания как такового, если имеются основания предполагать высокий риск его возникновения.

Важным является тот факт, что фенотипические проявления атопии зависят не от одной конкретной мутации, а от комплекса полиморфизмов генов-предикторов в их взаимодействии. На течение БА и контроль над этим заболеванием влияют не только отдельные мутации и вызываемые ими изменения в конкретных цепочках реализации иммунного ответа, сколько их сочетания, приводящие к интерференции сигналов в регуляторных сетях иммунитета.

В связи с этим методы классической статистики при поиске конкретных факторов риска и оценки их влияния на клинические характеристики БА у детей оказываются недостаточно эффективны. В таких си-

туациях, характеризующихся нечеткими и взаимодействующими параметрами с нелинейным характером их влияния и взаимодействия, заведомой неполнотой анализируемых данных и неочевидным алгоритмом получения результата, наиболее оптимальным статистическим инструментом являются обучающиеся нейронные сети.

Задача нейронной сети состоит в том, чтобы построить наиболее адекватную зависимость между входами и выходом, путем подгонки и композиции различных функций по имеющимся примерам исходных данных (наблюдениям).

Нейронные сети позволяют решать основные прикладные задачи, включая регрессию и классификацию. Регрессионные задачи рассматривают взаимосвязь между рядом входных переменных X и непрерывными выходными переменными T (целевые переменные). В задачах классификации для заданного множества входных значений ставится в соответствии метка класса из категориальной целевой переменной. Прогнозирование контролируемости БА относится именно к задачам классификации, поскольку целевые переменные прогноза являются по своей природе категориальными – степень контроля над заболеванием [18, 19].

Целью настоящего исследования является изучение возможности прогнозирования контроля БА на различных этапах развития заболевания на основе учета генетических полиморфизмов Toll-подобных рецепторов, цитокинов и генов системы детоксикации с использованием статистического метода обучающихся нейронных сетей.

Материалы и методы исследования

Набор материала выполнен с соблюдением Федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», международных этических принципов проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), решения комитета по биомедицинской этике Хабаровского филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательского института охраны материнства и детства.

Нами обследовано 167 детей с БА наблюдавшихся в клинике Научно-исследовательского института охраны материнства и детства в период с 2017 по 2021 гг. в возрасте от 1 до 17 лет, проживающих в Дальневосточном федеральном округе (Хабаровский край, Еврейская автономная область, Амурская область), Средний возраст детей составил $7,3 \pm 1,6$ года, 55% – мальчики, 45% – девочки; у 40% из них была легкая степень БА, у 48% средней тяжести и у 12% – тяжелое течение заболевания, средний астматический стаж на момент поступления по данным анамнеза составил $42 \pm 7,1$ месяцев.

Критерии включения в эти группы: подтверждение

диагноза БА, наличие доказательства ее атопического генеза – сенсибилизация к респираторным аллергенам.

Критерии исключения: наличие других бронхолегочных патологий и острых инфекционных заболеваний на момент обследования.

Степень контроля определялась исходя из Федеральных клинических рекомендаций по диагностике и лечению БА [20].

Выявлялись следующие мутации в генах, кодирующих Toll-подобные рецепторы: TLR2-Arg753Glu, TLR4-Asp299Gly, TLR4-Ghr399Ile, TLR9-T1237C, TLR9-A2848G; интерлейкины: IL4-C589T, IL6-C174G, IL10-G1082A, IL10-C592A, IL10-C819T, IL12B-A1188C, TNF α -G308A, генах системы детоксикации: GSTM, GSTT, GSTM/GSTT, GSTP1 Ile105Val, GSTP1 Ala114Val. Определение полиморфизмов проводилось методом ПЦР с использованием для выделения ДНК и амплификации наборов НПФ «Литех» (г. Москва), учет продуктов амплификации проводился методом электрофореза в агарозном геле.

Для моделирования нейронных сетей в данной работе был использован пакет STATISTICA. Автоматизированные нейронные сети – приложение с полной системой связей (полносвязные сети), предпочтительное для решаемых нами задач. В математической части работа выполнена при содействии научного сотрудника Научно-исследовательского института охраны материнства и детства, специалиста по информационным технологиям Алексея Владимировича Королева.

Результаты исследования и их обсуждение

При классическом анализе нами были получены следующие результаты (табл.).

При обработке имеющийся в данной работе информации о генетических предрасположенностях к неконтролируемому течению БА была использована нейросетевая модель со следующими характеристиками.

1. Модель построена на основе архитектуры многослойного перцептрона MLP (15-9-3) со слоем из 15 входных нейронов (по количеству анализируемых переменных), скрытым промежуточным слоем из 9 нейронов и выходным слоем из 3 нейронов по количеству значений классифицируемой переменной (контроль).
2. Алгоритм обучения выбран BFGS, как наиболее адекватный задаче классификации.
3. Функция ошибок выбрана традиционно в виде суммы квадратов отклонений.
4. Функция активации выходных нейронов – Softmax (экспоненциальная функция).
5. Функция активации промежуточного слоя – гиперболическая.
6. Объем обучающей выборки составил 88 наборов.
7. Объем выборок для тестирования и контроля качества модели составил 36 наборов.
8. В итоге полученная модель смогла предсказать 79,01% правильных значений целевой переменной (степень контроля БА).

Таблица

Основные статистические показатели значимости полиморфизмов генов сигнальных молекул и системы детоксикации, как факторов неконтролируемого течения БА

Гены	Полиморфизмы	Уилкса	Частная	F-исключ.	p-уров.	Толер.	1-толер.
TRL2	Arg753Glu	0,722037	0,992971	0,343320	0,710270	0,897993	0,102007
TRL4	Asp299Gly	0,718146	0,998350	0,080151	0,923038	0,872193	0,127807
TRL4	Ghr399Ile	0,735279	0,975088	1,239106	0,294186	0,701250	0,298750
TRL9	T1237C	0,736554	0,973399	1,325403	0,270464	0,792887	0,207113
TRL9	A2848G	0,762659	0,940081	3,091304	0,049948	0,886165	0,113835
IL4	C589T	0,722214	0,992727	0,355311	0,701864	0,785150	0,214850
IL6	C174G	0,718719	0,997554	0,118917	0,888011	0,783499	0,216501
IL10	G1082A	0,717035	0,999897	0,005013	0,995000	0,901374	0,098626
IL10	C592A	0,744021	0,963631	1,830494	0,165829	0,666920	0,333080
IL10	C819T	0,726440	0,986952	0,641185	0,528885	0,718785	0,281215
IL12B	A1188C	0,724568	0,989502	0,514561	0,599385	0,827870	0,172130
TNF	G308A	0,759405	0,944109	2,871168	0,061458	0,869208	0,130792
GSTM+T	GSTM_T	0,735233	0,975148	1,236024	0,295072	0,791848	0,208152
GSTP1	Ile105Val	0,774101	0,926186	3,865282	0,024259	0,793451	0,206549
GSTP1	Ala114Val	0,720542	0,995031	0,242217	0,785360	0,781872	0,218128

Полученные результаты были использованы при создании электронной программы, предназначеннной для прогнозирования неконтролируемого течения БА на различных этапах развития заболевания, включая донозологический – «Прогнозирование неконтролируемого течения БА на основе разнообразия полиморфизмов генов молекул сигнальной системы», данная программа в настоящий момент находится на стадии регистрации.

Заключение

Таким образом, при применении разработанной программы мы можем с достаточно большой вероятностью (79,01%) прогнозировать возможность развития неконтролируемой или частично контролируемой астмы на любом этапе заболевания,

включая доклинический и донозологический для групп с высоким риском развития БА в принципе. Это может позволить индивидуально корректировать меры вторичной и даже первичной профилактики БА в рамках персонализации терапевтических подходов.

Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2020 update). URL: www.ginasthma.org
2. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд., перераб. и доп. М.: Оригинал-макет, 2017. 160 с. ISBN: 978-5-9909505-3-5. URL: <http://astgmu.ru/wp-content/uploads/2018/10/Natsionalnaya-programma-VA-u-detej.-Strategiya-lecheniya-i-profilaktika.pdf>
3. О состоянии службы охраны здоровья женщин и детей в Хабаровском крае (статистические материалы) 2020. Хабаровск, 2021. URL: <https://miac.medkhv.ru/federal-reports/>
4. NHWS – National Health and Wellness Survey. URL: <https://www.kantarhealth.com/docs/datasheets/kh-national-health-and-wellness-survey.pdf>. (15.04.2019).
5. Архипов В.В., Григорьева Е.В., Гавришина Е.В. Контроль над бронхиальной астмой в России: результаты

многоцентрового наблюдательного исследования НИКА // Пульмонология. 2011. №6. С.87–93. EDN: RCMQNO. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2011-0-6-87-93>

6. Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Калинина Е.П., Лобанова Е.Г., Антонюк М.В. Иммунные механизмы формирования бронхиальной астмы контролируемого и частично контролируемого течения // Медицинская иммунология. 2019. Т.21, №3. С.495–502. EDN: ACFPTR. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-3-495-502>

7. Смольникова М.В., Смирнова С.В., Ильинкова Н.А., Коноплева О.С. Иммунологические маркеры неконтролируемого течения атопической бронхиальной астмы у детей // Медицинская иммунология. 2017. Т.19, №4. С.453–460. EDN: ZFVBKH. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-4-453-460>

8. Антонюк М.В., Гвозденко Т.А., Новгородцева Т.П., Виткина Т.И., Гельцер Б.И., Юрченко А.В., Минеева Е.Е., Кнышова В.В. Особенности цитокинового профиля у больных бронхиальной астмой в сочетании с ожирением // Медицинская иммунология. 2018. Т.20, №6. С.913–920. EDN: YOOZQD. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-6-913-920>

9. Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Порядин Г.В., Греченко В.В., Ганковский В.А., Алексеева А.А., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н., Брагвадзе Б.Г., Свитич О.А. Изменение показателей врожденного иммунитета при тяжелой бронхиальной астме у детей // Медицинская иммунология. 2019. Т.21, №1. С.99–106. EDN: VUSYDG. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-1-99-106>

10. Steiner M., Hawranek T., Schneider M., Ferreira F., Horejs-Hoeck J., Harrer A., Himly M. Elevated Toll-Like Receptor-Induced CXCL8 Secretion in Human Blood Basophils from Allergic Donors Is Independent of Toll-Like Receptor Expression Levels // PLoS One. 2016. Vol.11, Iss.2. e0149275. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149275>

11. Zakeri A., Russo M. Dual role of Toll-like receptors in human and experimental asthma models // Front. Immunol. 2018. Vol.9. Article number: 1027. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01027>

12. Cevheras L., Ogulur I., Maurer D.J., Burla D., Ding M., Jansen K., Koch J., Liu C., Ma S., Mitamura Y., Peng Y., Radzikowska U., Rinaldi A.O., Satitsuksanoa P., Globinska A., van de Veen W., Sokolowska M., Baerenfaller K., Gao Y.D., Agache I., Akdis M., Akdis C.A. Advances and recent developments in asthma in 2020 // Allergy. 2020. Vol.75, Iss.12. P.3124–3146. <https://doi.org/10.1111/all.14607>

13. Tomisa G., Horváth A., Sánta B., Keglevich A., Tamási L. Epidemiology of comorbidities and their association with asthma control // Allergy Asthma Clin. Immunol. 2021. Vol.17, Iss.1. Article number: 95. <https://doi.org/10.1186/s13223-021-00598-3>

14. Kuti B.P., Omole K.O., Kuti D.K. Factors associated with childhood asthma control in a resource-poor center // J. Family Med. Prim. Care. 2017. Vol.6, Iss.2. P.222–230. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_271_16

15. Leppilahti J., Majuri M.-L., Sorsa T., Hirvonen A., Piirilä P. Associations Between Glutathione-S-Transferase Genotypes and Bronchial Hyperreactivity Patients With Di-isocyanate Induced Asthma. A Follow-Up Study // Front. Med. (Lausanne). 2019. Vol.6. 220. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00220>

16. Resende E.P., Todo-Bom A., Loureiro C., Mota Pinto A., Oliveira B., Mesquita L., Silva H.C. Asthma and rhinitis have different genetic profiles for IL13, IL17A and GSTP1 polymorphisms // Rev. Port. Pneumol. 2017. Vol.23, Iss.1. P.10–16. <https://doi.org/10.1016/j.rppnen.2016.06.009>

17. Hamzah I.H., Shafi F.A.A., Al Sharqi S.A.H., Brakhas SA. Cytology and molecular study for GSTP1 effect on asthma Iraqi patients // Clin. Mol. Allergy. 2019. Vol.17. Article number: 4. <https://doi.org/10.1186/s12948-019-0108-0>

18. Хасанов А.Г., Шайбаков Д.Г., Жернаков С.В., Меньшиков А.М., Бадретдинова Ф.Ф., Суфияров И.Ф., Сагадатова Ю.Р. Нейронные сети для прогнозирования динамики развития заболеваний // Креативная хирургия и онкология. 2020. Т.10, №3. С.198–204. EDN: DZNXJA. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2020-10-3-198-204>

19. Рутковская Д., Пилиньский М., Рутковский Л. Нейронные сети, генетические алгоритмы и нечеткие системы: Пер. с польск. М.: Горячая Линия–Телеком, 2013. 384 с. ISBN: 978-5-9912-0320-3

20. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы. М.: Российское респираторное общество, 2021. URL: https://www.spulmo.ru/upload/kr/BA_2021.pdf

REFERENCES

1. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2020 update). Available at: www.ginasthma.org
2. [The national program "Bronchial asthma in children. Strategy of treatment and prevention"]. Moscow; 2017 (in Russian). Available at: <http://astgmu.ru/wp-content/uploads/2018/10/Natsionalnaya-programma-BA-u-detej.-Strategiya-lecheniya-i-profilaktika.pdf>
3. [On the state of the women's and children's health protection service in the Khabarovsk Territory (statistical materials) 2020]. Khabarovsk: 2021 (in Russian). Available at: <https://miac.medkhv.ru/federal-reports/>
4. NHWS – National Health and Wellness Survey. Available at: <https://www.kantarhealth.com/docs/datasheets/kh-national-health-and-wellness-survey.pdf>. (15.04.2019).
5. Arkhipov V.V., Grigoryeva E.V., Gavrilishina E.V. [Control of bronchial asthma in Russia: results of NIKA multi-

center observational study]. *Pulmonologiya* 2011;(6):87–93 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2011-0-6-87-93>

6. Vitkina T.I., Novgorodtseva T.P., Kalinina E.P., Lobanova E.G., Antonyuk M.V. [Immune mechanisms for development of controlled and partially controlled asthma]. *Medical Immunology (Russia)* 2019; 21(3):495–502 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-3-495-502>

7. Smolnikova M.V., Smirnova S.V., Ilyenkova N.A., Konopleva O.S. [Immunological markers of uncontrolled atopic bronchial asthma in children]. *Medical Immunology (Russia)* 2017; 19(4):453–460 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-4-453-460>

8. Antonyuk M.V., Gvozdenko T.A., Novgorodtseva T.P., Vitkina T.I., Geltser B.I., Yurenko A.V., Mineeva E.E., Knyshova V.V. [Features of cytokine profile in patients with bronchial asthma combined with obesity]. *Medical Immunology (Russia)* 2018; 20(6):913–920 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-6-913-920>

9. Gankovskaya L.V., Namazova-Baranova L.S., Poriadin G.V., Grechenko V.V., Gankovsky V.A., Alekseeva A.A., Salmashi Z.M., Kazimirsky A.N., Bragvadze B.G., Svitich O.A. [Changes of innate immunity indexes in severe asthma in children.]. *Medical Immunology (Russia)* 2019; 21(1):99–106 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-1-99-106>

10. Steiner M., Hawranek T., Schneider M., Ferreira F., Horejs-Hoeck J., Harrer A., Himly M. Elevated Toll-Like Receptor-Induced CXCL8 Secretion in Human Blood Basophils from Allergic Donors Is Independent of Toll-Like Receptor Expression Levels. *PLoS One* 2016; 11(2):e0149275. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149275>

11. Zakeri A., Russo M. Dual role of Toll-like receptors in human and experimental asthma models. *Front. Immunol.* 2018; 9:1027. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01027>

12. Cevheras L., Ogulur I., Maurer D.J., Burla D., Ding M., Jansen K., Koch J., Liu C., Ma S., Mitamura Y., Peng Y., Radzikowska U., Rinaldi A.O., Satitsuksanoa P., Globinska A., van de Veen W., Sokolowska M., Baerenfaller K., Gao Y.D., Agache I., Akdis M., Akdis C.A. Advances and recent developments in asthma in 2020. *Allergy* 2020; 75(12):3124–3146. <https://doi.org/10.1111/all.14607>

13. Tomisa G., Horváth A., Sánta B., Keglevich A., Tamási L. Epidemiology of comorbidities and their association with asthma control. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2021; 17(1):95. <https://doi.org/10.1186/s13223-021-00598-3>

14. Kuti B.P., Omole K.O., Kuti D.K. Factors associated with childhood asthma control in a resource-poor center. *J. Family Med. Prim. Care* 2017; 6(2):222–230. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_271_16

15. Leppilahti J., Majuri M-L., Sorsa T., Hirvonen A., Piirilä P. Associations Between Glutathione-S-Transferase Genotypes and Bronchial Hyperreactivity Patients With Di-isocyanate Induced Asthma. A Follow-Up Study. *Front. Med. (Lausanne)* 2019; 6:220. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00220>

16. Resende E.P., Todo-Bom A., Loureiro C., Mota Pinto A., Oliveira B., Mesquita L., Silva H.C. Asthma and rhinitis have different genetic profiles for IL13, IL17A and GSTP1 polymorphisms. *Rev. Port. Pneumol.* 2017; 23(1):10–16. <https://doi.org/10.1016/j.rppnen.2016.06.009>

17. Hamzah I.H., Shafi F.A.A., Al Sharqi S.A.H., Brakhas SA. Cytology and molecular study for GSTP1 effect on asthma Iraqi patients. *Clin. Mol. Allergy* 2019; 17:4. <https://doi.org/10.1186/s12948-019-0108-0>

18. Hasanov A.G., Shaybakov D.G., Zhernakov S.V., Men'shikov A.M., Badretdinova F.F., Sufiyarov I.F., Sagadatova J.R. [Neural Networks in Forecasting Disease Dynamics]. *Creative Surgery and Oncology* 2020; 10(3):198–204 (in Russian). <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2020-10-3-198-204>

19. Rutkovskaya D., Pilinsky M., Rutkovsky L. [Neural networks, genetic algorithms and fuzzy systems]. Moscow, 2013 (in Russian). ISBN: 978-5-9912-0320-3

20. [Federal clinical guidelines for the diagnosis and treatment of bronchial asthma]. Moscow: Russian Respiratory Society; 2021 (in Russian). Available at: https://www.spulmo.ru/upload/kr/BA_2021.pdf

Информация об авторе:

Евгений Николаевич Супрун, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, группа медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка, Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства; e-mail: iomid@yandex.ru

Author information:

Evgeniy N. Suprun, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist of the Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health, Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Maternity and Childhood Protection; e-mail: iomid@yandex.ru

УДК 616.24-008.811.6-036.65:578.834.1 "COVID-19"] 616-07(001.8)

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-62-67

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОЗДУХОНАПОЛНЕННОСТИ ЛЕГКИХ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Е.Ю.Афанасьева^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

²Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Амурский государственный университет», 675027, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе, 21

РЕЗЮМЕ. Цель. Разработать способ определения воздухонаполненности легких по параметрам спирометрии «поток-объем» форсированного выдоха. **Материалы и методы.** У 43 пациентов с легкой персистирующей неконтролируемой бронхиальной астмой в сочетании с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей была проведена оценка параметров вентиляционной функции легких методами спирометрии с применением бронходилатационного теста и бодиплетизмографии. **Результаты.** Из всей совокупности параметров при помощи регрессионного анализа были построены два уравнения, с включением основных спирометрических показателей (OФВ_1 в % от должной величины, $\Delta\text{OФВ}_1$ и $\Delta\text{MОС}_{75}$ после бронходилатационного теста, в %). Полученные уравнения позволяют рассчитать показатели воздухонаполненности легких у больных бронхиальной астмой с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей для отбора больных для направления на проведение бодиплетизмографии и мультиспиральной компьютерной томографии легких с целью диагностики выраженной гиперинфляции. **Заключение.** Разработанные регрессионные модели предоставляют возможность предварительной оценки наличия и степени гиперинфляции легких у больных бронхиальной астмой с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей, определять персональные подходы к базисной противовоспалительной терапии и при необходимости своевременно проводить ее коррекцию.

Ключевые слова: бронхиальная астма, осмотическая гиперреактивность дыхательных путей, гиперинфляция легких, регрессионная модель.

METHOD FOR LUNG INFLATION DETERMINING IN ASTHMA PATIENTS WITH OSMOTIC AIRWAY HYPERRESPONSIVENESS

E.Y.Afanas'eva^{1,2}

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

²Amur State University, 21 Ignatievskoe Highway, Blagoveshchensk, 675027, Russian Federation

SUMMARY. Aim. To develop a method for determining the lung inflation by the indexes of forced expiratory flow-volume spirometry. Materials and methods. In 43 patients with mild persistent uncontrolled asthma in combination with osmotic airway hyperresponsiveness, the lung function indexes were assessed by spirometry using a bronchodilation test and bodyplethysmography. Results. From the entire set of parameters, using regression analysis, two equations were constructed, with the inclusion of the main spirometric indicators (FEV_1 in % of the due value, ΔFEV_1 and ΔFEF_{75} after the bronchodilation test, in %). The equations obtained make it possible to calculate lung inflation indices in asthma patients with osmotic airway hyperresponsiveness to select patients for referral for bodyplethysmography and multispiral computed

Контактная информация

Евгения Юрьевна Афанасьева, 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: evgenyananov@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Evgeniya Yu. Afanas'eva, 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: evgenyananov@yandex.ru

Для цитирования:

Афанасьева Е.Ю. Способ определения воздухонаполненности легких у больных бронхиальной астмой с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.62–67. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-62-67

For citation:

Afanas'eva E.Yu. Method for lung inflation determining in asthma patients with osmotic airway hyperresponsiveness. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhanija* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):62–67 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-62-67

tomography of the lungs in order to diagnose the severity of hyperinflation. **Conclusion.** The developed regression models provide an opportunity for a preliminary assessment of the presence and degree of lung hyperinflation in asthma patients with osmotic airway hyperresponsiveness, to determine personal approaches to basic anti-inflammatory therapy and, if necessary, to correct it in a timely manner.

Key words: bronchial asthma, osmotic airway hyperresponsiveness, lung hyperinflation, regression model.

Изучению механизмов формирования неоднородности бронхиальной обструкции в настоящее время уделяется особое внимание. За прошедшие десятилетия появились существенные доказательства того, что гетерогенное сужение периферических дыхательных путей является ключевым фактором снижения вентиляционной функции легких и механики дыхания при хронических обструктивных болезнях лёгких.

Имеются предположения, что формирование клинических фенотипов и молекулярных эндотипов бронхиальной астмы (БА) связано с генетическими факторами, которые могут играть ключевую роль в нарушении лёгочной функции, приводя к появлению структурной гетерогенности функциональных нарушений [1]. К примеру, есть результаты исследований, которые демонстрируют, что данные нарушения связаны с негативными последствиями активации катионных каналов семейства TRPV, типом клеточного воспаления и другими молекулярными механизмами и сопровождаются структурной перестройкой респираторного тракта [2, 3]. На данный момент использование современных аппаратов и методов диагностики вентиляционных нарушений у больных БА позволяет исследователям не только оценить степень выраженности функциональных нарушений бронхолегочной системы, но и визуализировать общую картину изменений на основе построения трехмерных компьютерно-томографических моделей, определить точную локализацию процесса, дать подробную зональную характеристику с выявлением региональных особенностей вентиляции [4, 5].

Ранее нами было показано, что осмотическая гиперреактивность дыхательных путей сопряжена не только со снижением значений параметров вентиляционной функции легких, потерей контроля над БА, но также с гетерогенностью бронхиальной обструкции и гиперинфляцией легких [6]. Схожие результаты были получены при исследовании воздухонаполненности легких у больных БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей, которые демонстрировали, что у этих больных по данным мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) имеются более выраженные нарушения региональной вентиляции легких [7–9]. У больных БА с осмотической гиперреактивностью бронхов при МСКТ-визуализации также регистрировалась неоднородность бронхиальной обструкции, при которой присутствовали изменения проходимости дистальных бронхов, приводящие к увеличению участков перерастяжения эластических структур лёгких, возникновению «воздушных ловушек», зональным нарушениям лёгочной вентиляции по

результатам трёхмерной волюметрии и денситометрии. По данным бодиплетизмографии, у этих больных фиксировалась повышенная воздухонаполненность легких.

Изучение влияния низких температур и высокой относительной влажности воздуха на воздухонаполненность легких у больных БА показало, что у пациентов с наличием холодовой и осмотической гиперреактивности дыхательных путей в сравнении с пациентами с неизмененной реакцией на физические стимулы в большей степени увеличены показатели воздухонаполненности как по данным трехмерной волюметрии, так и по результатам бодиплетизмографии [6–9]. Это дает нам основание предположить, что вероятно большинство физических стимулов (холодный воздух, высокая относительная влажность) способны вызывать структурные гетерогенные изменения в дыхательных путях, приводящие к их дисфункции у больных БА. По данным литературных источников, заметная гетерогенная реакция дыхательных путей описана после вдыхания метахолина [10, 11]. При МСКТ-визуализации участки бронхоконстрикции чередуются с участками парадоксального расширения дыхательных путей, присутствующими в бронхах всех калибров [10, 11]. Как видим, у больных БА реакция на бронхопровокационные стимулы сопровождается неоднородностью бронхиальной обструкции, развитием легочной гиперинфляции. В реальной клинической практике возможности диагностики гиперинфляции легких методами бодиплетизмографии и МСКТ-волюметрии весьма ограничены, особенно на амбулаторном этапе.

Цель нашего исследования состояла в разработке способа определения воздухонаполненности легких по параметрам спирометрии «поток-объем» форсированного выдоха.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 43 пациента, из них 27 мужчин и 16 женщин европеоидной расы, средний возраст в общей группе составил $43,1 \pm 1,3$ лет, рост $166,8 \pm 0,7$ см, вес $72,1 \pm 1,1$ кг. Все пациенты на момент первичного обследования имели установленный диагноз лёгкой персистирующей БА не менее одного года. Диагноз был выставлен согласно Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) в соответствии с Международными согласительными документами (GINA, 2022) [12]. У всех пациентов ранее была верифицирована осмотическая гиперреактивность дыхательных путей посредством проведения бронхопровокационной пробы с ингаляцией дистиллированной воды.

Исследование было одобрено локальным Комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД (протокол №121 от 25.10.2017 г.) и проведено с соблюдением Федерального закона 323-ФЗ от 21 ноября 2011 г. «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изменениями от 25 июня 2012 г.), требований Хельсинкской декларации (Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта, WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013). Все пациенты были ознакомлены с процедурой и дали письменное информированное согласие на своё участие в исследовании.

Исследование включало в себя оценку вентиляционной функции легких методами спирометрии и бодиплетизмографии, определение обратимости бронхиальной обструкции при пробе с бронхолитиком. Вентиляционную функцию лёгких оценивали при проведении спирометрического исследования на аппарате Easy on-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария) в соответствии со стандартами ATS/ERS [13] с определением основных параметров кривой «поток-объем» форсированного выдоха: форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), объема форсированного выдоха за 1-ю сек (ОФВ₁), ОФВ₁/ЖЕЛ, пиковой объемной скорости выдоха (ПОС), максимальной скорости выдоха на уровне 50 и 75% ФЖЕЛ (MOC_{50} и MOC_{75} , соответственно), средней скорости выдоха на уровне 25-75% ФЖЕЛ (SOC_{25-75}). С целью определения обратимости бронхиальной обструкции у больных БА выполняли бронходилатационный тест с β_2 -агонистом сальбутамолом в дозе 400 мкг. Проба считалась положительной при увеличении ОФВ₁ на величину $\geq 12\%$ и ≥ 200 мл через 15 мин после ингаляции сальбутамола (ΔOFV_{1B}) [14].

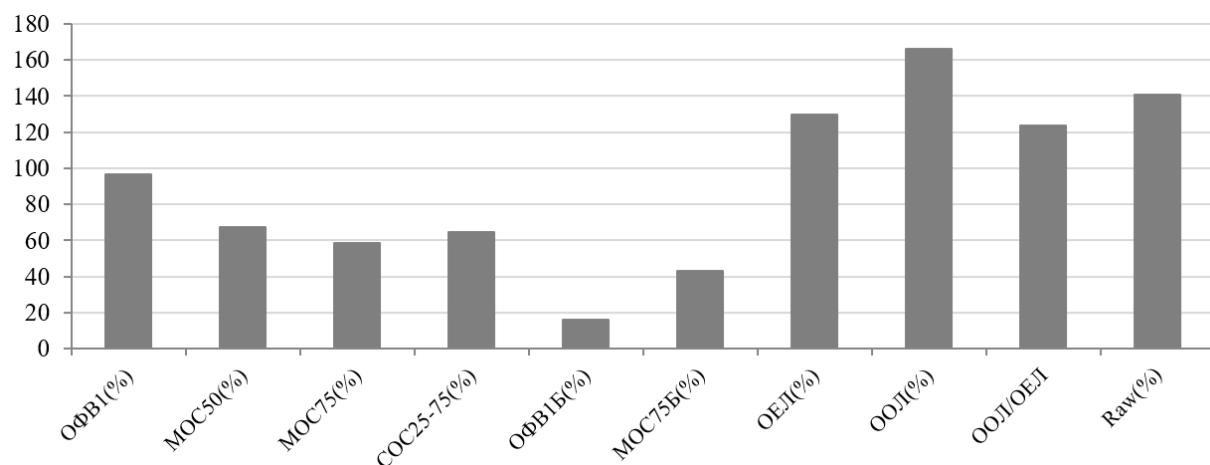


Рис. Клинико-функциональная характеристика обследованных пациентов.

Из всей совокупности параметров, характеризующих функциональное состояние системы внешнего дыхания, с помощью регрессионного анализа были идентифицированы показатели, которые могут слу-

жить объективными прогностическими маркерами повышенной воздухонаполненности легких. В результате регрессионного анализа были построены два уравнения, позволяющие оценить уровень воздухонаполнен-

Оценку воздухонаполненности лёгких проводили методом общей плеизмографии (Power Cube BODY+, Гансхорн, Германия) [15]. Анализировали бронхиальное сопротивление на выдохе (Raw, %), общую ёмкость лёгких (ОЕЛ, %), остаточный объём лёгких (ООЛ, %), соотношение ООЛ/ОЕЛ (%).

Условия проведения функциональных исследований были соблюдены в соответствии с требованиями совместного пересмотра Американского торакального общества и Европейского респираторного общества [16]. Перед проведением всех функциональных исследований пациентов просили воздерживаться от приёма препаратов как минимум за 6-24 часов до предполагаемого исследования [16].

Результаты исследования и их обсуждение

На рисунке приведена клинико-функциональная характеристика обследованных пациентов. Данные больные имели выявленную ранее осмотическую гиперреактивность дыхательных путей: падение ОФВ₁ после бронхопровокационной пробы с ингаляцией дистиллированной воды в среднем по группе составило – $11,3 \pm 1,7\%$. У этих пациентов отсутствовал адекватный контроль над заболеванием (в среднем $16,2 \pm 0,9$ баллов ACT), однако обращает на себя внимание то, что усредненные показатели вентиляционной функции легких, полученные при спирометрии, находились в границах нормальных значений (рис.). При этом по результатам бодиплетизмографии были увеличены средние показатели воздухонаполненности, что отражало развитие гиперинфляции лёгких, обусловленной неравномерной обструкцией на уровне мелких бронхов (менее 2 мм в диаметре), и сопровождалось увеличением бронхиального сопротивления на выдохе.

ности легких и прогнозировать гиперинфляцию у больных БА с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей:

$$ОЕЛ (\%) = 125,17 + 1,029 \times \Delta ОФВ_{1B} \% - 0,231 \times \Delta МОС_{75B} \%$$

где ОЕЛ – общая емкость легких (в % от должной), $\Delta ОФВ_{1B} \%$ – прирост ОФВ₁ после броходилатационной пробы (в % от исходного), $\Delta МОС_{75B} \%$ – прирост МОС₇₅ после бронходилатационной пробы (в % от исходного). Регрессия значима с вероятностью 99,60%.

$$ООЛ/ОЕЛ (\%) = 199,44 - 0,803 \times ОФВ_1 (\%),$$

где ООЛ/ОЕЛ – отношение остаточного объема легких к общей емкости легких (в %), ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю сек (в % долж.). Регрессия значима с вероятностью 100,0%.

Таким образом, пациенты с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей имеют значимые нарушения бронхиальной проходимости на уровне мелких бронхов, приводящие к увеличению участков перерастяжения эластических структур лёгких, возникновению «воздушных ловушек» и создающих зоны гиперинфляции. Это сопровождается структурными и функциональными дефектами в виде региональных нарушений вентиляции, которые можно диагностировать с помощью бодиплетизографии и МСКТ методом трехмерной волюметрии, зональной планиметрии и денситометрии. Следует сказать, что метод бодиплетизографии дает общее представление о существующих нарушениях в воздухонаполненности легких у больных БА, не определяя зональные дефекты вентиляции, тогда как это представляется значимым. Более

точную степенную оценку региональных нарушений дают методы МСКТ-трехмерной волюметрии, зональной планиметрии и денситометрии, что зачастую бывает важно для определения тактики ведения больного.

Полученные регрессионные уравнения позволяют определить функциональные параметры воздухонаполненности легких, по которым следует проводить целенаправленный отбор больных БА с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей для направления на проведение более точных методов исследования дыхательной системы (бодиплетизография, МСКТ) с целью диагностики легочной гиперинфляции, определения степени ее тяжести и с учетом полученных результатов определить персональные подходы к базисной противоастматической терапии.

Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование выполнено при частичной поддержке Министерства науки и высшего образования (проект 122082400001-8)

Funding Sources

The study was partially supported by the Ministry of Science and High Education of the Russian Federation (Project No. 122082400001-8)

ЛИТЕРАТУРА

1. Lui J.K., Lutchen K.R. The role of heterogeneity in asthma: a structure-to-function perspective // Clin. Transl. Med. 2017. Vol.6, Iss.1. Article number: 29. <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0159-0>
2. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с. ISBN: 978-5-8044-1220-4. EDN: POBRZA.
3. 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
4. Donovan G.M. Inter-airway structural heterogeneity interacts with dynamic heterogeneity to determine lung function and flow patterns in both asthmatic and control simulated lungs // J. Theor. Biol. 2017. Vol.435. P.98–105. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.08.024>
5. Foy B.H., Kay D. A computational comparison of the multiple-breath washout and forced oscillation technique as markers of bronchoconstriction // Respir. Physiol. Neurobiol. 2017. Vol.240. P.61–69. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2017.02.016>
6. Афанасьев Е.Ю., Приходько А.Г., Ильин А.В., Перельман Ю.М. Изменения воздухонаполненности легких у больных бронхиальной астмой с осмотической гиперреактивностью дыхательных путей // Пульмонология. 2021. Т.31. №6. С.749–758. EDN: SMCDUL. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2021-31-6-749-758>
7. Ильин А.В., Перельман Ю.М., Леншин А.В., Приходько А.Г. Применение компьютерной томографии с трехмерной волюметрией в диагностике нарушений вентиляционной функции легких у больных бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.51. С.33–37. EDN: RZAQMJ.
8. Ильин А.В., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Леншин А.В. Взаимосвязь проходимости и реактивности мелких бронхов с гиперинфляцией легких у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей // Дальневосточный медицинский журнал. 2014. Вып.3. С.18–22. EDN: SYQJGB.
9. Ильин А.В., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Леншин А.В. Изменения воздухонаполненности легких у больных бронхиальной астмой в зависимости от степени контроля над заболеванием // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.52. С.34–40. EDN: SFMIBF.

10. Dubsky S., Zosky G.R., Perks K., Samarage C.R., Henon Y., Hooper S.B., Fouras A. Assessment of airway response distribution and paradoxical airway dilation in mice during methacholine challenge // *J. Appl. Physiol.* 2017. Vol.122, Iss.3. P.503–510. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00476.2016>
11. Plantier L., Pradel A., Delclaux C. Mechanisms of non-specific airway hyperresponsiveness: Methacholine-induced alterations in airway architecture // *Rev. Mal. Respir.* 2016. Vol.33, Iss.8. P.735–743. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2015.10.742>
12. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2022). URL: <https://ginasthma.org>.
13. Miller M.R., Hankinson J., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Navajas D., Pedersen O.F., Pellegrino R., Viegi G., Wanger J. Standardisation of spirometry // *Eur. Respir. J.* 2005. Vol.26. P.319–338. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00034805>
14. Coates A.L., Wanger J., Cockcroft D.W., Culver B.H., Kai-Håkon Carlsen, Diamant Z., Gauvreau G., Hall G.L., Hallstrand T.S., Horvath I., de Jongh F.H.C., Joos G., Kaminsky D.A., Laube B.L., Leuppi J.D., Sterk P.J. ERS technical standard on bronchial challenge testing: general considerations and performance of methacholine challenge tests // *Eur. Respir. J.* 2017. Vol.49. Article number: 1601526. <https://doi.org/10.1183/13993003.01526-2016>
15. Wanger J., Clausen J.L., Coates A., Pedersen O.F., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pellegrino R., Viegi G. Standardisation of the measurement of lung volumes // *Eur. Respir. J.* 2005. Vol.26, Iss.3. P.511–522. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00035005>
16. Hallstrand T.S., Leuppi J.D., Joos G., Hall G.L., Carlsen K.H., Kaminsky D.A., Coates A.L., Cockcroft D.W., Culver B.H., Diamant Z., Gauvreau G.M., Horvath I., de Jongh F.H.C., Laube B.L., Sterk P.J., Wanger J. ERS technical standard on bronchial challenge testing: pathophysiology and methodology of indirect airway challenge testing // *Eur. Respir. J.* 2018. Vol.52, Iss.5. Article number: 1801033. <https://doi.org/10.1183/13993003.01033-2018>

REFERENCES

1. Lui J.K., Lutchen K.R. The role of heterogeneity in asthma: a structure-to-function perspective. *Clin. Transl. Med.* 2017; 6(1):29. <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0159-0>
2. Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. [Airway hyperresponsiveness]. Vladivostok: Dal'nauka; 2011 (in Russian). ISBN: 978-5-8044-1220-4
3. Perelman J.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
4. Donovan G.M. Inter-airway structural heterogeneity interacts with dynamic heterogeneity to determine lung function and flow patterns in both asthmatic and control simulated lungs. *J. Theor. Biol.* 2017; 435:98–105. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.08.024>
5. Foy B.H., Kay D. A computational comparison of the multiple-breath washout and forced oscillation technique as markers of bronchoconstriction. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2017; 240:61–69. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2017.02.016>
6. Afanas'eva E.Yu., Prikhodko A.G., Il'in A.V., Perelman J.M. [Changes in lung inflation in asthma in patients with osmotic airway hyperresponsiveness]. *Pulmonologiya* 2021; 31(6):749–758 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2021-31-6-749-758>
7. Il'in A.V., Perelman J.M., Lenshin A.V., Prikhodko A.G. [Application of computer-aided tomography with 3D volumetry in the diagnose of lung function disorders in patients with bronchial asthma]. *Bülleten'fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2014; (51):33–37 (in Russian).
8. Il'in A.V., Perel'man J.M., Prikhodko A.G., Lenshin A.V. [Interrelation of potency and reactivity of small bronchi with lung hyperinflation in patients with bronchial asthma and cold airway hyperresponsiveness]. *Dal'nevostochnyy meditsinskij zhurnal* 2014; (3):18–22 (in Russian).
9. Il'in A.V., Perelman J.M., Prikhodko A.G., Lenshin A.V. [The changes in lungs inflation in asthmatics depending on the degree of asthma control]. *Bülleten'fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2014; (52):34–40 (in Russian).
10. Dubsky S., Zosky G.R., Perks K., Samarage C.R., Henon Y., Hooper S.B., Fouras A. Assessment of airway response distribution and paradoxical airway dilation in mice during methacholine challenge. *J. Appl. Physiol.* 2017; 122 (3):503–510. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00476.2016>
11. Plantier L., Pradel A., Delclaux C. Mechanisms of non-specific airway hyperresponsiveness: Methacholine-induced alterations in airway architecture. *Rev. Mal. Respir.* 2016; 33(8):735–743. <https://doi.org/10.1016/j.rmr.2015.10.742>
12. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2022). Available at: <https://ginasthma.org>.
13. Miller M.R., Hankinson J., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Crapo R., Enright P., van der Grinten

C.P.M., Gustafsson P., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Navajas D., Pedersen O.F., Pellegrino R., Viegi G., Wanger J. Standardisation of spirometry. *Eur. Respir. J.* 2005; 26:319–338. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00034805>

14. Coates A.L., Wanger J., Cockcroft D.W., Culver B.H., Kai-Håkon Carlsen, Diamant Z., Gauvreau G., Hall G.L., Hallstrand T.S., Horvath I., de Jongh F.H.C., Joos G., Kaminsky D.A., Laube B.L., Leuppi J.D., Sterk P.J. ERS technical standard on bronchial challenge testing: general considerations and performance of methacholine challenge tests. *Eur. Respir. J.* 2017; 49:1601526. <https://doi.org/10.1183/13993003.01526-2016>

15. Wanger J., Clausen J.L., Coates A., Pedersen O.F., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Crapo R., Enright P., van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., Jensen R., Johnson D., MacIntyre N., McKay R., Miller M.R., Navajas D., Pellegrino R., Viegi G. Standardisation of the measurement of lung volumes. *Eur. Respir. J.* 2005; 26(3):511–522. <https://doi.org/10.1183/09031936.05.00035005>

16. Hallstrand T.S., Leuppi J.D., Joos G., Hall G.L., Carlsen K.H., Kaminsky D.A., Coates A.L., Cockcroft D.W., Culver B.H., Diamant Z., Gauvreau G.M., Horvath I., de Jongh F.H.C., Laube B.L., Sterk P.J., Wanger J. ERS technical standard on bronchial challenge testing: pathophysiology and methodology of indirect airway challenge testing. *Eur. Respir. J.* 2018; 52(5):1801033. <https://doi.org/10.1183/13993003.01033-2018>

Информация об авторе:

Евгения Юрьевна Афанасьева, канд. мед. наук, младший научный сотрудник лаборатории молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; научный сотрудник лаборатории математического моделирования сложных физических и биологических систем, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурский государственный университет»; e-mail: evgenyananev@yandex.ru

Author information:

Evgeniya Yu. Afanas'eva, PhD (Med.), Junior Staff Scientist of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; Staff Scientist of Laboratory of Mathematical Modeling of Complex Physical and Biological Systems, Amur State University; e-mail: evgenyananev@yandex.ru

Поступила 05.12.2022

Received December 05, 2022

Принята к печати 16.12.2022

Accepted December 16, 2022

УДК 616.24-002:616.98:578] "COVID-19":616-072.6

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-68-72

ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛАЗЕРНОЙ ДОППЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ У ПАЦИЕНТОВ С БАКТЕРИАЛЬНОЙ И ВИРУСНОЙ (COVID-19) ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

О.А.Абулдинова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95

РЕЗЮМЕ. Введение. В результате пандемии коронавирусной инфекции (COVID-19) почти 74,9 тысячи человек умерли от пневмонии в России в 2021 году. Внебольничная пневмония (ВП) сопровождается системным ответом организма на воспаление в легочной ткани и нарушением микроциркуляции. Метод лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) позволяет оценить общие параметры микроциркуляторного русла и определить состояние различных факторов регуляции нутритивного русла. **Цель.** Провести сравнительный анализ показателей ЛДФ у пациентов с COVID-19-ассоциированной и бактериальной ВП. **Материалы и методы.** Обследовано 140 пациентов, из них 100 с нетяжёлой ВП (основная группа), и 40 больных с внелёгочной патологией (группа сравнения). В основную группу вошли 44 человека с бактериальной ВП и 56 человек с COVID-19-ассоциированной ВП. Проведены бактериологические исследования мокроты, выявление РНК SARS-CoV-2 в мазках из рогоглотки и носоглотки методом ПЦР, ЛДФ для оценки состояния периферического кровотока. **Результаты.** У пациентов с COVID-19-ассоциированной ВП по сравнению с больными бактериальной ВП установлено снижение показателя микроциркуляции в 1,26 раза ($p<0,0005$), повышение коэффициента вариации в 1,11 раза ($p<0,0005$). **Заключение.** У пациентов с COVID-19-ассоциированной ВП по сравнению с больными бактериальной ВП выявлены более значимые патологические изменения в показателях допплерограмм, что может свидетельствовать о более выраженных нарушениях в микроциркуляторном русле при COVID-19-ассоциированной ВП, вызванных воздействием вируса SARS-CoV-2 на организм. Возможно, установленный факт может привести к неблагоприятным исходам течения заболевания.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, COVID-19, лазерная допплеровская флоуметрия.

FEATURES OF LASER DOPPLER FLOWMETRY IN PATIENTS WITH BACTERIAL AND VIRAL (COVID-19) COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

O.A.Abuldinova

Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. As a result of the coronavirus infection (COVID-19) pandemic, almost 74.9 thousand people died of pneumonia in Russia in 2021. Community-acquired pneumonia (CAP) is accompanied by a systemic response of the body to inflammation in the lung tissue and disorder of microhemocirculation. The method of laser Doppler flowmetry (LDF) allows assessing the general parameters of the microcirculatory bed and determining the state of various factors regulating the nutritive flow. **Aim.** To conduct a comparative analysis of LDF indices in patients with COVID-19-associated and bacterial CAP. **Materials and methods.** 140 patients were examined, 100 of them with non-severe CAP (main group), and 40 patients with extrapulmonary pathology (comparison group). The main group included 44 people with bacterial CAP and 56 people with COVID-19-associated CAP. Bacteriological studies of sputum were performed;

Контактная информация

Ольга Александровна Абулдинова, очный аспирант кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Горького 95. E-mail: abuldinova@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Olga A. Abuldinova, MD, Postgraduate Student, Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course, Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: abuldinova@mail.ru

Для цитирования:

Абулдинова О.А. Особенности показателей лазерной допплеровской флоуметрии у пациентов с бактериальной и вирусной (COVID-19) внебольничной пневмонией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.68–72. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-68-72

For citation:

Abuldinova O.A. Features of laser Doppler flowmetry in patients with bacterial and viral (covid-19) community-acquired pneumonia. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhanija* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):68–72 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-68-72

detection of SARS-CoV-2 RNA in swabs from the oropharynx and nasopharynx by PCR, LDF to assess the state of peripheral blood flow was carried out. **Results.** In patients with COVID-19-associated CAP, compared with patients with bacterial CAP, a decrease in the microcirculation index by 1.26 times ($p<0.0005$), an increase in the coefficient of variation by 1.11 times ($p<0.0005$) was found. **Conclusion.** In patients with COVID-19-associated CAP, compared with patients with bacterial CAP, more significant pathological changes in Dopplerograms were detected, which may indicate more pronounced disorders in the microcirculatory bed in COVID-19-associated CAP caused by exposure to the SARS-CoV-2 virus. Perhaps the established fact can lead to adverse outcomes of the course of the disease.

Key words: community-acquired pneumonia, COVID-19, laser Doppler flowmetry.

Внебольничная пневмония (ВП) является достаточно распространённым заболеванием органов дыхания. С каждым столетием его течение усугубляется, так как появляются всё больше новых штаммов вирулентных микроорганизмов, являющихся возбудителями пневмонии [1]. Действие антибиотиков слабеет, летальность увеличивается. Число больных с осложнённым течением болезни растёт из-за недостаточной оценки тяжести состояния пациентов, и остаётся одной из главных проблем здравоохранения в России [2].

Ежегодное число смертей, вызванных ВП, по всей стране снизилось в период с 2016 по 2019 гг. Однако в результате пандемии COVID-19 почти 74,9 тысячи человек умерли от пневмонии в России в 2021 году, что значительно больше, чем в предыдущие годы [3]. Причём особенностью COVID-19-ассоциированной пневмонии является ее возможная бессимптомность: в некоторых случаях она никак не проявляется, неожиданно перерастая в состояние, при котором без срочной госпитализации не обойтись [4].

В связи с этим актуальность проблемы комплексной оценки тяжести состояния больного ВП и прогнозирования течения заболевания на ранних сроках госпитализации возрастает [5]. Существует множество шкал оценки тяжести и прогноза течения пневмонии, однако в реальной клинической практике имеется опасность необъективной оценки тяжести состояния пациента в связи с недооценкой роли изменения состояния микроциркуляторного русла [6, 7]. С учетом того, что ВП сопровождается системным ответом организма на воспаление в легочной ткани, предполагается, что оценка состояния микроциркуляторного русла позволит прогнозировать течение заболевания [8].

Метод лазерной допплеровской флюметрии (ЛДФ) позволяет не только оценить общие параметры микроциркуляторного русла, но и определить состояние различных активных и пассивных факторов регуляции нутритивного русла [9].

В связи с вышеизложенным, изучение особенностей микрогемоциркуляции у больных ВП методом ЛДФ является весьма актуальной задачей [10].

Цель исследования – провести сравнительный анализ показателей ЛДФ у пациентов с COVID-19-ассоциированной и бактериальной ВП.

Материалы и методы исследования

Обследовано 140 человек, проходивших стационарное лечение в профильных отделениях Амурской

областной клинической больницы и Благовещенской городской клинической больницы, из них с нетяжёлой ВП 100 человек (основная группа) и с внелёгочной патологией – 40 (группа контроля). Основная группа была разделена на подгруппы: с бактериальной ВП – 44 пациента (1 подгруппа) и с COVID-19-ассоциированной ВП – 56 участников исследования (2 подгруппа). Пациенты основной и контрольной групп были сопоставимы по полу и возрасту ($p>0,5$). В группу контроля вошли 11 женщин и 29 мужчин, в основной группе находились 32 женщины и 68 мужчин. Средний возраст пациентов основной группы составил $41,5\pm8,4$ года, группы контроля – $42,5\pm8,1$ года. Из исследования были исключены пациенты с патологией сердечно-сосудистой системы, хроническими заболеваниями внутренних органов и имеющие привычные интоксикации (курильщики).

Для исследования состояния микроциркуляторного русла использовался лазерный анализатор капиллярного кровотока ЛААК-02 (НПП «Лазма», Россия). При анализе допплерограмм оценивали следующие показатели: ПМ – параметр микрогемоциркуляции; σ – среднее квадратичное отклонение ПМ; Kv – коэффициент вариации. Все показатели вносились в протокол и электронную таблицу. Для повышения объективности получаемых данных нами соблюдались условия стандартизации ЛДФ, предложенные European Contact Dermatitis Society (1994):

- в помещении поддерживалась постоянная температура окружающего воздуха $21\text{--}24^\circ\text{C}$;
- все записи допплерограмм производили в одно и тоже время суток, в утренние часы;
- за 12 часов до исследования у всех пациентов исключался прием пищи, вазоактивных препаратов, отменялись любые физиотерапевтические воздействия;
- эмоциональный покой у пациентов достигался проведением психологической беседы накануне и в день проведения исследования;
- топика расположения световодного зонда у всех обследуемых была одинаковой (для оценки состояния периферического кровотока использовалась интраназальная область).

При работе с участниками исследования соблюдались этические принципы Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных 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. Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике при Амурской государственной медицинской академии. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие.

Ввод и анализ данных проводили с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics версия 23.0 (США). Возраст участников, показатели лазерной допплеровской флюметрии при нормальном распределении случайных величин и фиксированной дисперсии устанавливали с использованием непарного параметрического t-критерия Стьюдента. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$). Статистически значимые различия были определены как $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты записи допплерограмм у пациентов в исследуемых группах представлены в таблице.

У всех больных в интраназальной области регистрировались различные по характеру и степени выраженности нарушения микроциркуляторного кровообращения. Параметр микрогемоциркуляции (ПМ), измеряемый в перфузионных единицах (ПЕ) и характеризующий состояние перфузии тканей, достоверно уменьшался у всех больных ВП, как бактериальной, так и вирусной (COVID-19) этиологии: в подгруппе с нетяжелой COVID-19-ассоциированной ВП (подгруппа 2) установлено снижение показателя ПМ в 5,96 раза ($13,8 \pm 3,8$ ПЕ; $p < 0,0005$) относительно группы контроля (ПМ в интраназальной области у об-

следуемых лиц контрольной группы составил $82,3 \pm 5,3$ ПЕ). В подгруппе с нетяжелой ВП бактериальной этиологии (подгруппа 1) показатель ПМ был ниже в 4,73 раза ($17,4 \pm 5,2$ ПЕ; $p < 0,0005$) относительно группы контроля. При внутригрупповом сравнении, более выраженное снижение данного показателя отмечалось во 2 подгруппе – показатель ПМ был в 1,26 раза ниже ($p < 0,0005$), чем в 1 подгруппе.

Значения среднего квадратичного отклонения параметра микрогемоциркуляции (σ), отражающего состояние и функционирование механизмов регуляции кровотока в микроциркуляторном русле, у больных 1 подгруппы уменьшались до $10,2 \pm 0,7$ ПЕ, что в 1,05 раза меньше, чем у группы пациентов без лёгочной патологии ($10,7 \pm 0,5$; ПЕ $p = 0,0006$). Во 2 подгруппе наблюдалось ещё более выраженное снижение – $5,9 \pm 0,4$ ПЕ – в 1,81 раза меньше ($p < 0,0005$), чем в группе контроля. В подгруппе больных COVID-19-ассоциированной ВП данный показатель был в 1,73 раза ниже ($p < 0,0005$), чем в подгруппе пациентов с бактериальной ВП.

Коэффициент вариации (Kv), характеризующий зависимость перфузии ткани от модуляции кровотока, повышался в обоих подгруппах больных с ВП. В подгруппе больных COVID-19-ассоциированной ВП выявлено повышение показателя Kv в 3,28 раза ($45,2 \pm 5,4\%$; $p < 0,0005$) относительно группы контроля ($13,8 \pm 1,2\%$). В подгруппе пациентов с бактериальной ВП данный показатель был выше в 3,63 раза ($p < 0,0005$) относительной контрольной группы, и в 1,11 раза выше ($p < 0,0005$), чем в подгруппе больных COVID-19-ассоциированной ВП.

Таблица

Показатели записи допплерограмм у пациентов в исследуемых группах

Показатели	1 подгруппа (n=44)	p_1	2 подгруппа (n=56)	p_2	Контроль (n=40)
ПМ, ПЕ	$17,4 \pm 5,2$	$<0,0005$	$13,8 \pm 3,8$	$<0,0005$	$82,3 \pm 5,3$
σ , ПЕ	$10,2 \pm 0,7$	$0,0006$	$5,9 \pm 0,4$	$<0,0005$	$10,7 \pm 0,5$
Kv, %	$50,1 \pm 6,1$	$<0,0005$	$45,2 \pm 5,4$	$<0,0005$	$13,8 \pm 1,2$

Примечание: ПЕ – перфузионные единицы; данные представлены как среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$); p_1 и p_2 – уровень достоверности различий между, соответственно, показателями 1 подгруппы и контрольной группы, показателями 2 подгруппы и контрольной группы.

Накопленные результаты исследований других авторов демонстрируют изменения в сосудах в виде развития дисфункции эндотелия в условиях активации воспалительных процессов, что может привести к нарушению свертываемости крови и развитию неблагоприятных исходов у пациентов с COVID-19-ассоциированной ВП [11]. На фоне воспалительных реакций развивается дисфункция эндотелия, что, по данным исследователей, указывает на неблагоприятный прогноз у пациентов с COVID-19 [12]. Полученные в настоящем исследовании данные

демонстрируют патологический тип микроциркуляции у пациентов с COVID-19-ассоциированной ВП, что в совокупности с повреждением на уровне эндотелия формирует негативный прогноз в отношении рисков тромбообразования. Впервые в представленной работе у пациентов с COVID-19-ассоциированной ВП на основании комплексного исследования с использованием метода ЛДФ изучено состояние микроциркуляторного русла по основным параметрам, установлено статистически достоверное снижение показателя микроциркуляции и повышение коэффициента вариации по

сравнению с больными бактериальной ВП. Необходимы дальнейшие исследования, включая проспективный этап наблюдения, для получения данных об информативности показателей ЛДФ при определении клинико-диагностических и прогностических критерий повреждений на уровне микроциркуляторного русла во взаимосвязи с протромботической активностью эндотелия у пациентов после COVID-19.

Заключение

У пациентов с COVID-19-ассоциированной ВП по сравнению с больными бактериальной пневмонией выявлены более значимые патологические изменения в показателях допплерограмм, что может свидетельствовать о более выраженных нарушениях в микроцирку-

ляторном русле при COVID-19-ассоциированной ВП, вызванных воздействием вируса SARS-CoV-2 на организм. Возможно, установленный факт может привести к неблагоприятным исходам течения заболевания.

Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Кучmezova F.A., Шабатукова М.Я., Арамисова Р.М., Камбачокова З.А., Борукаева И.Х., Чочаева М.Ж., Габаева М.М., Сабанчиеva X.A. Региональные особенности течения пневмоний на современном этапе // Антибиотики и Химиотерапия. 2020. Т.65, №1-2. С.33–37. EDN: VPOJBA. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-1-2-33-37>
2. Авдеев С.Н., Белоцерковский Б.З., Дехнич А.В., Зайцев А.А., Козлов Р.С., Проценко Д.Н., Рачина С.А., Синопальников А.И., Яковлев С.В., Ярошецкий А.И. Современные подходы к диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых: обзор литературы // Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2021. №3. С.27–46. EDN: XJQVZY. <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2021-3-27-46>
3. Statista. Number of deaths caused by pneumonia in Russia from 2016 to 2021. URL: <https://www.statista.com/statistics/1103859/pneumonia-caused-deaths-in-russia/>
4. Синопальников А.И. COVID-19 и внебольничная пневмония // Consilium Medicum. 2021. Т.23, №3. С.269–274. EDN: KUOVEJ. <https://doi.org/10.26442/20751753.2021.3.200816>
5. Ермакова О.А. Особенности внебольничной пневмонии у взрослых // Молодой ученый. 2019. №5(243). С.49–52. EDN: POCDGJ
6. Быстрицкая Е.В., Биличенко Т.Н. Анализ заболеваемости пневмониями взрослого и детского населения Российской Федерации за 2010–2014 гг. // Пульмонология. 2017. Т.27, № 2. С.173–178. EDN: YZKJPL. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2017-27-2-173-178>
7. Титова О., Кузубова Н., Александров А., Перлей В., Шумилов А. Особенности гемодинамики при внебольничной пневмонии на фоне ХОБЛ // Врач. 2018. Т.29, №12. С.51–54. EDN: YQOQKD. <https://doi.org/10.29296/25877305-2018-12-12>
8. Овчинникова О.А. Использование дыхательной пробы при анализе микроциркуляции и механизмов ее регуляции методом ЛДФ в норме и при гипоксии // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2021. №3 (79). С.108–111. EDN: JCIHUR. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-3\(79\)-108-111](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-3(79)-108-111)
9. Федорович А.А. Микрососудистое русло кожи человека как объект исследования // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2017. Т.16, №4. С.11–26. EDN: ZXXXBT. <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2017-16-4-11-26>
10. Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: колебания, информация, нелинейность. Руководство для врачей. М.: ЛИБРОКОМ, 2013. 496 с. ISBN: 978-5-397-03942-0
11. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., Mehra M.R., Schuepbach R.A., Ruschitzka F., Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 // Lancet. 2020. Vol.395, Iss.10234. P.1417–1418. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
12. Zhang G., Hu C., Luo L., Fang F., Chen Y., Li J., Peng Z., Pan H. Clinical features and short-term outcomes of 221 patients with COVID-19 in Wuhan, China // J. Clin. Virol. 2020. Vol.127. Article number: 104364. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104364>

REFERENCES

1. Kuchmezova F.A., Shabatukova M.Y., Aramisova R.M., Kambachokova Z.A., Borukaeva I.K., Chochaeva M.Z., Gabaeva M.M., Sabanchieva H.A. [Regional Features of the Course of Pneumonia at the Present Stage]. *Antibiotics and Chemotherapy* 2020; 65(1-2):33–37 (in Russian). <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-1-2-33-37>
2. Avdeev S.N., Belotserkovskiy B.Z., Dehnich A.V., Zaytsev A.A., Kozlov R.S., Protsenko D.N., Ratchina S.A., Si-

- nopalnikov A.I., Yakovlev S.V., Yaroshetskiy A.I. [Modern approaches to the diagnostics, treatment and prevention of severe community-acquired pneumonia in adults: a review]. *Annals of Critical Care* 2021; 3:27–46 (in Russian). <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2021-3-27-46>
3. Statista. Number of deaths caused by pneumonia in Russia from 2016 to 2021. Available at: <https://www.statista.com/statistics/1103859/pneumonia-caused-deaths-in-russia/>
4. Sinopalnikov A.I. [COVID-19 and community-acquired pneumonia]. *Consilium Medicum* 2021; 23(3):269–274 (in Russian). <https://doi.org/10.26442/20751753.2021.3.200816>
5. Yermakova O.A. [Features of community-acquired pneumonia in adults]. *Molodoy uchenyy* 2019; (5):49–52 (in Russian).
6. Bystritskaya E.V., Bilichenko T.N. [An analysis of pneumonia morbidity in adults and children at Russian Federation, 2010–2014]. *Pulmonologiya* 2017; 27(2):173–178 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2017-27-2-173-178>
7. Titova O., Kuzubova N., Aleksandrov A., Perley V., Shumilov A. [Hemodynamic features in community-acquired pneumonia in the presence of chronic obstructive pulmonary disease]. *Vrach* 2018; 29(12):51–54 (in Russian). <https://doi.org/10.29296/25877305-2018-12-12>
8. Ovchinnikova O.A. [The use of a respiratory sample in analysis of microcirculation and mechanisms of its regulation by LDF method in normal and in hypoxia]. *Journal of VolgSMU* 2021; (3):108–111 (in Russian). [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-3\(79\)-108-111](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-3(79)-108-111)
9. Fedorovich A.A. [Microcirculation of the human skin as an object of research]. *Regional blood circulation and microcirculation* 2017; 16(4):11–26 (in Russian). <https://doi.org/10.24884/1682-6655-2017-16-4-11-26>
10. Krupatkin A.I., Sidorov V.V. [Functional diagnostics of the state of microcirculatory and tissue systems: fluctuations, information, non-linearity]. Moscow: Librokom; 2013 (in Russian). ISBN: 978-5-397-03942-0
11. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., Mehra M.R., Schuepbach R.A., Ruschitzka F., Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet* 2020; 395(10234):1417–1418. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
12. Zhang G., Hu C., Luo L., Fang F., Chen Y., Li J., Peng Z., Pan H. Clinical features and short-term outcomes of 221 patients with COVID-19 in Wuhan, China. *J. Clin. Virol.* 2020; 127:104364. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104364>

Информация об авторе:

Ольга Александровна Абулдинова, очный аспирант кафедры госпитальной терапии с курсом фармакологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95; e-mail: abuldinova@mail.ru

Author information:

Olga A. Abuldinova, MD, Postgraduate Student, Department of Hospital Therapy with Pharmacology Course, Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 675000; e-mail: abuldinova@mail.ru

Поступила 10.10.2022
Принята к печати 31.10.2022

Received October 10, 2022
Accepted October 31, 2022

УДК 618.36-06:616.233-002-036.65 (612.018+616.073)578.825.12

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-73-79

ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНАЯ И ДОППЛЕРОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БЕРЕМЕННЫХ С ОБОСТРЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ПРОСТОГО БРОНХИТА, АССОЦИИРОВАННЫМ С РЕАКТИВАЦИЕЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Л.Г.Нахамчен¹, И.Н.Гориков¹, В.П.Колосов¹, А.Н.Одишев¹, И.А.Андреевская¹, Н.А.Ишутин¹,
А.В.Бушманов², И.В.Довжикова¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

²Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Амурский государственный университет», 675027, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе, 21

РЕЗЮМЕ. Цель. Дать иммуно-гормональную и допплерометрическую характеристику плацентарной недостаточности у беременных с обострением хронического простого бронхита, ассоциированным с реактивацией цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ). **Материалы и методы.** В сыворотке крови исследовалась концентрация IL-1 β , IL-2 и прогестерона, а также определяли пульсационный индекс в правой маточной артерии (ПИ в ПМА) у 80 пациенток на 21-24 неделях гестации, неосложненных и осложненных обострением хронического простого бронхита, обусловленным реактивацией ЦМВИ. При ретроспективном анализе были сформированы 3 группы. Первая группа – 30 женщин с ЦМВ-серонегативной физиологической беременностью; вторая – 25 пациенток с хроническим простым бронхитом в стадии обострения, инициированного острой фазой ЦМВИ, приводящей к хронической компенсированной плацентарной недостаточности (ХКПН); третья – 25 женщин с обострением хронического простого бронхита ЦМВИ этиологии, вызывающим развитие хронической субкомпенсированной плацентарной недостаточности (ХСПН) в третьем триместре гестации. **Результаты.** В первой группе концентрация IL-1 β составляла $22,8 \pm 2,02$ пг/мл, IL-2 – $30,6 \pm 2,34$ пг/мл, прогестерона – $130,8 \pm 8,19$ нмоль/л, а величина ПИ в ПМА – $0,83 \pm 0,04$ отн. ед. У больных второй группы по сравнению с первой возрастал уровень IL-1 β в 3,82 раза ($p < 0,001$), IL-2 – в 2,55 раза ($p < 0,001$) и ПИ в ПМА – в 1,40 раза ($p < 0,001$) на фоне падения содержания прогестерона в 1,47 раза ($p < 0,001$). Третья группа в сравнении с первой характеризовалась подъемом концентрации IL-1 β в 6,87 раза ($p < 0,001$), IL-2 – в 3,19 раза ($p < 0,001$) и ПИ в ПМА – в 1,66 раза ($p < 0,001$) при более низких показателях прогестерона (в 1,93 раза, $p < 0,001$). В третьей группе в отличие от второй наблюдали рост IL-1 β в 1,79 раза ($p < 0,001$), IL-2 – в 1,24 раза ($p < 0,05$) и ПИ в ПМА – в 1,17 раза ($p < 0,05$), а также снижение уровня прогестерона в 1,31 раза ($p < 0,01$). Отмечалось усиление взаимосвязи ПИ в ПМА с концентрацией IL-1 β ($r = 0,69$; $p < 0,001$), IL-2 ($r = 0,75$; $p < 0,001$) и прогестерона ($r = -0,55$; $p < 0,01$). **Заключение.** При обострении хронического простого бронхита во втором триместре гестации на фоне реактивации ЦМВИ, инициирующей развитие ХСПН, в сопоставлении с обострением бронхолегочной патологии аналогичной этиологии, определяющей формирование в последующем ХКПН, отмечается более выраженная системная воспалительная реакция, приводящая к угнетению синтеза прогестерона и повышению сопротивления току крови в ПМА.

Ключевые слова: интерлейкин-1, интерлейкин-2, прогестерон, правая маточная артерия, цитомегаловирусная инфекция, хронический простой бронхит, беременность, хроническая плацентарная недостаточность.

Контактная информация

Игорь Николаевич Гориков, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Correspondence should be addressed to

Igor' N. Gorikov, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: dncfpd@dcfpd.ru

Для цитирования:

Нахамчен Л.Г., Гориков И.Н., Колосов В.П., Одишев А.Н., Андреевская И.А., Ишутин Н.А., Бушманов А.В., Довжикова И.В. Иммуно-гормональная и допплерометрическая характеристика плацентарной недостаточности у беременных с обострением хронического простого бронхита, ассоциированным с реактивацией цитомегаловирусной инфекции // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.73–79. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-73-79

For citation:

Nakhamchen L.G., Gorikov I.N., Kolosov V.P., Odireev A.N., Andreevskaya I.A., Ishutina N.A., Bushmanov A.V., Dovzhikova I.V. Immuno-hormonal and dopplerometric characteristics of placental insufficiency in pregnant women with exacerbation of chronic bronchitis associated with reactivation of cytomegalovirus infection. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhanija* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):73–79 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-73-79

IMMUNO-HORMONAL AND DOPPLEROMETRIC CHARACTERISTICS OF PLACENTAL INSUFFICIENCY IN PREGNANT WOMEN WITH EXACERBATION OF CHRONIC BRONCHITIS ASSOCIATED WITH REACTIVATION OF CYTOMEGALOVIRUS INFECTION

L.G.Nakhamchen¹, I.N.Gorikov¹, V.P.Kolosov¹, A.N.Odireev¹, I.A.Andrievskaya¹, N.A.Ishutina¹,
A.V.Bushmanov², I.V.Dovzhikova¹

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

²*Amur State University, 21 Ignatievskoe highway, Blagoveshchensk, 675027, Russian Federation*

SUMMARY. Aim. To give immune-hormonal and dopplerometric characteristics of placental insufficiency in pregnant women with exacerbation of chronic bronchitis associated with reactivation of cytomegalovirus infection (CMVI). Materials and methods. The concentration of IL-1 β , IL-2 and progesterone was studied in the blood serum, and the pulsation index (PI) in the right uterine artery (RUA) was determined in 80 patients at 21-24 weeks of gestation, uncomplicated and complicated by exacerbation of chronic simple bronchitis due to reactivation of CMVI. In a retrospective analysis, 3 groups were formed. The first group – 30 women with CMV-seronegative physiological pregnancy; the second – 25 patients with chronic bronchitis in the acute stage, initiated by the acute phase of CMVI, leading to chronic compensated placental insufficiency (CCPI); the third – 25 women with exacerbation of chronic bronchitis CMVI etiology, causing the development of chronic subcompensated placental insufficiency (CSPI) in the third trimester of gestation. Results. In the first group, the concentration of IL-1 β was 22.8 ± 0.02 pg/mL, IL-2 – 30.6 ± 2.34 pg/mL, progesterone – 130.8 ± 8.19 nmol/L, and the value of PI in RUA – 0.83 ± 0.04 rel. units. In patients of the second group, compared with the first, the level of IL-1 β increased by 3.82 times ($p < 0.001$), IL-2 – by 2.55 times ($p < 0.001$) and PI in the RUA – by 1.40 times ($p < 0.001$) against the background of a decrease in the progesterone concentration by 1.47 times ($p < 0.001$). The third group compared with the first was characterized by an increase in the concentration of IL-1 β by 6.87 times ($p < 0.001$), IL-2 – by 3.19 times ($p < 0.001$) and PI in RUA by 1.66 times ($p < 0.001$) with lower levels of progesterone (1.93 times, $p < 0.001$). In the third group, in contrast to the second one, an increase in IL-1 β was observed by 1.79 times ($p < 0.001$), IL-2 – by 1.24 times ($p < 0.05$) and PI in RUA – by 1.17 times ($p < 0.05$), as well as a decrease in progesterone levels by 1.31 times ($p < 0.01$). There was an increase in the relationship of PI in RUA with the concentration of IL-1 β ($r = 0.69$; $p < 0.001$), IL-2 ($r = 0.75$; $p < 0.001$) and progesterone ($r = -0.55$; $p < 0.01$). Conclusion. A more pronounced systemic inflammatory reaction, leading to inhibition of progesterone synthesis and increased resistance to blood flow at RUA develops in exacerbation of chronic bronchitis in the second trimester of gestation against the background of reactivation of CMVI, which initiates the development of CCPI, in comparison with the exacerbation of bronchopulmonary pathology of a similar etiology, which determines the formation of subsequent CSPI.

Key words: interleukin-1, interleukin-2, progesterone, right uterine artery, cytomegalovirus infection, chronic simple bronchitis, pregnancy, chronic placental insufficiency.

Обострение хронического простого бронхита, обусловленное реактивацией вирусной инфекции, проявляется системным воспалительным ответом [1] и нарушением уровня половых гормонов [2]. Одним из маркеров воспалительной реакции является IL-1 β , участвующий в стимуляции синтеза IL-2, уровня простагландина E2, коллагена и активности коллагеназы [3]. Повышение выработки клетками эндотелия IL-1 β способствует локализации инфекционно-воспалительного процесса [4] и указывает на развитие внутриматочной инфекции [5].

Рост IL-2 инициирует повышение активности В-клеток и синтез антител, а также развитие аутоиммунных реакций [6]. В период гестации, иммуносупрессия, обусловленная прогестероном, объясняется его взаимодействием с ядерными рецепторами (PR), с помощью которых осуществляется регуляция иммунных и гемодинамических реакций [7]. Прогестерон сенсибилизирует β -адренорецепторы миометрия и способствует снижению контракtilной активности

мускулатуры матки за счет медиаторов симпатической нервной системы. В основе регулирующего влияния прогестерона на миометрий лежит его активное участие в работе ферментных систем, а также в поддержании иммунологической толерантности [8].

Цель работы – дать иммуно-гормональную и допплерометрическую характеристику плацентарной недостаточности у беременных с обострением хронического простого бронхита, ассоциированным с реакцией цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ).

Материалы и методы исследования

У 80 женщин с физиологическим течением беременности и с беременностью, осложненной обострением хронического простого бронхита, ассоциированного с реакцией ЦМВИ, в сыворотке крови исследовали концентрацию IL-1 β , IL-2 и прогестерона, а также определяли пульсационный индекс (ПИ) в правой маточной артерии (ПМА). Первую группу (контрольную) составили 30 ЦМВ-серонега-

тивных женщин на 21-24 неделях физиологической беременности. Во вторую группу вошли 25 пациенток с хроническим простым бронхитом в стадии обострения, обусловленного острой fazой ЦМВИ, приводящей к формированию хронической компенсированной плацентарной недостаточности (ХКПН). Третья группа состояла из 25 женщин с обострением хронического простого бронхита ЦМВИ этиологии, вызывающим развитие хронической субкомпенсированной плацентарной недостаточности (ХСПН) в третьем триместре гестации.

Диагностика обострения хронического простого бронхита проводилась с использованием клинических и функциональных методов исследования, а обострения ЦМВИ – с помощью молекулярно-генетического и иммуноферментного анализа. Верификация степени тяжести ХПН осуществлялась посредством выявления специфических функциональных и морфологических критериев [9, 10].

Для определения в крови у беременных содержания IL-1 β , IL-2 и прогестерона использовались, соответственно, наборы: «Интерлейкин 1- β ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест»), «Цитокин» (Санкт-Петербург) и «Стероид-ИФА-прогестерон» (ООО «Алькор Био», Санкт-Петербург).

Допплерометрическое исследование кровотока в правой маточной артерии на 21-24 неделях гестации проводилось с помощью датчика 5 МГц на аппарате ALOKA SSD-1700 (Япония). У обследованных женщин рассчитывали пульсационный индекс (ПИ) по формуле (A-B)/C (отн. ед.), где А – максимальная скорость кровотока в систолу; В – минимальная скорость кровотока в диастолу; С – средняя скорость кровотока в течение сердечного цикла.

Забор крови для исследования и проведение допплерометрии маточных артерий проводились у беременных с их согласия, а также с соблюдением требований Хельсинкской Всемирной медицинской ас-

социации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (2013) и Правил клинической практики в Российской Федерации, утвержденных приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. №266. Исследование получило одобрение Комитета по биомедицинской этике при Дальневосточном научном центре физиологии и патологии дыхания.

Статистическая обработка материала проводилась с помощью программы Statistica 10.0. Оценка значимости различий между группами осуществлялась с помощью t-критерия Стьюдента. Сила и направленность связей между показателями оценивались посредством корреляционного анализа (r). Различия были статистически значимыми при $p<0,05$.

С целью установления взаимосвязи между провоспалительными цитокинами и гормонами в исследуемых группах использовали метод аппроксимации кривой серии точек, полученных из экспериментальных данных (программа CurveFitting (Maple)) [11].

Результаты исследования и их обсуждение

У женщин первой группы в сыворотке периферической крови концентрация IL-1 β равнялась $22,8 \pm 2,02$ пг/мл, IL-2 – $30,6 \pm 2,34$ пг/мл, прогестерона – $130,8 \pm 8,19$ нмоль/л, а ПИ в правой маточной артерии – $0,83 \pm 0,04$ отн. ед. (табл.). В этой группе между уровнем IL-2 и прогестероном определялась слабая прямая корреляция ($r=0,44$; $p<0,05$), иллюстрирующая характер иммуно-гормональных отношений [12]. Во второй группе, в отличие от первой, отмечалось увеличение содержания IL-1 β в 3,82 раза ($p<0,001$), IL-2 – в 2,55 раза ($p<0,001$) и ПИ в ПМА – в 1,40 раза ($p<0,001$) при снижении уровня прогестерона в 1,47 раза ($p<0,001$). У пациенток второй группы регистрировалась слабая зависимость между ПИ в ПМА, концентрацией IL-1 β , IL-2 и прогестерона, соответственно, $r=0,49$ ($p<0,01$), $r=0,40$ ($p<0,05$) и $r=-0,44$ ($p<0,05$).

Таблица

Изменение содержания IL-1 β , IL-2, прогестерона и показателей пульсационного индекса (ПИ) в правой маточной артерии (ПМА) на 21-24 неделях гестации у женщин в исследуемых группах (M±m)

Показатели	Исследуемые группы		
	Первая	Вторая	Третья
IL-1 β , пг/мл	$22,8 \pm 2,02$	$87,3 \pm 4,98$ $p<0,001$	$156,8 \pm 5,39$ $p<0,001$; $p_1<0,001$
IL-2, пг/мл	$30,6 \pm 2,34$	$78,3 \pm 4,91$ $p<0,001$	$97,7 \pm 5,62$ $p<0,001$; $p_1<0,05$
Прогестерон, нмоль/л	$130,8 \pm 8,19$	$88,7 \pm 5,44$ $p<0,001$	$67,7 \pm 4,78$ $p<0,001$; $p_1<0,05$
ПИ ПМА, отн. ед.	$0,83 \pm 0,04$	$1,17 \pm 0,04$ $p<0,001$	$1,38 \pm 0,07$ $p<0,001$; $p_1<0,05$

Примечание: p – уровень значимости различий с показателями первой группы; p_1 – то же с показателями второй группы.

Вышеуказанные корреляционные связи указывали на важную роль активации Th1-звена клеточного иммунитета в регуляции сосудистого сопротивления в исследуемой артерии матки при формировании в последующем ХКПН.

В третьей группе по сравнению с первой определялись более высокие показатели IL-1 β (в 6,87 раза, $p<0,001$), IL-2 (в 3,19 раза, $p<0,001$) и ПИ в ПМА (в 1,66 раза, $p<0,001$) на фоне снижения значений прогестерона (в 1,93 раза, $p<0,001$). У женщин третьей группы в сопоставлении со второй возрастал уровень IL-1 β в 1,79 раза ($p<0,001$), IL-2 – в 1,24 раза ($p<0,05$) и ПИ в ПМА – в 1,17 раза ($p<0,05$) при снижении содержания прогестерона в 1,31 раза ($p<0,01$). При этом диагностировалось усиление взаимосвязи ПИ в ПМА с концентрацией IL-1 β ($r=0,69$; $p<0,001$), IL-2 ($r=0,75$; $p<0,001$) и прогестерона ($r=-0,55$; $p<0,01$). Обнаруживалась позитивная корреляция уровня IL-1 β и IL-2 ($r=0,53$; $p<0,01$), отражающая существующую между ними зависимость [13]. Определялись отрицательные связи между IL-1 β и прогестероном ($r=-0,51$; $p<0,01$), а также между IL-2 и половым гормоном ($r=-0,62$; $p<0,001$), иллюстрирующие участие провоспалительных цитокинов в угнетении стероидогенеза.

У пациенток с обострением хронического простого бронхита, ассоциированного с реактивацией ЦМВИ, инициирующей развитие в последующем ХКПН, с помощью метода аппроксимации кривой четко документировалась взаимосвязь IL-1 β , IL-2 и прогестерона, которая описывалась в виде параболы (рис. 1), на которой визуализировались точки, отражающие максимальные, минимальные и средние значения этих показателей. Математически они были представлены в виде уравнения: $Y = -13.8*x^2 + 34.6*x + 82.6$.

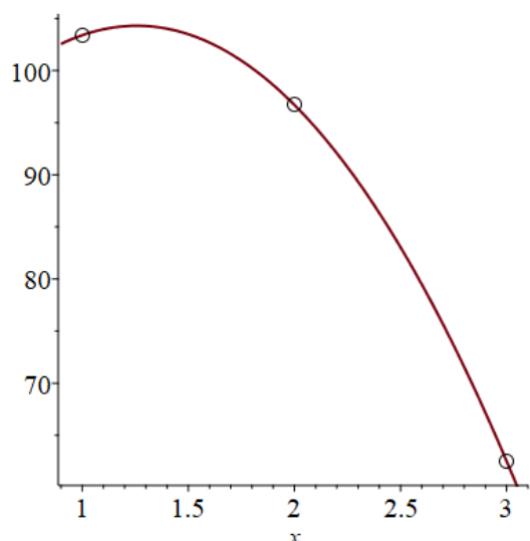


Рис. 1. Взаимосвязь концентрации IL-1 β , IL-2 и прогестерона у женщин во втором триместре беременности с обострением хронического простого бронхита, обусловленного реактивацией ЦМВИ, приводящей к развитию ХКПН.

Во втором триместре беременности на фоне обострения хронического простого бронхита, инициированного реактивацией ЦМВИ, приводящей к формированию ХСПН, документировалось изменение связи между содержанием в сыворотке крови IL-1 β , IL-2 и прогестероном. Они были представлены параболой, на которой выявлялись более высокие параметры иммунных и гормональных маркеров (рис. 2).

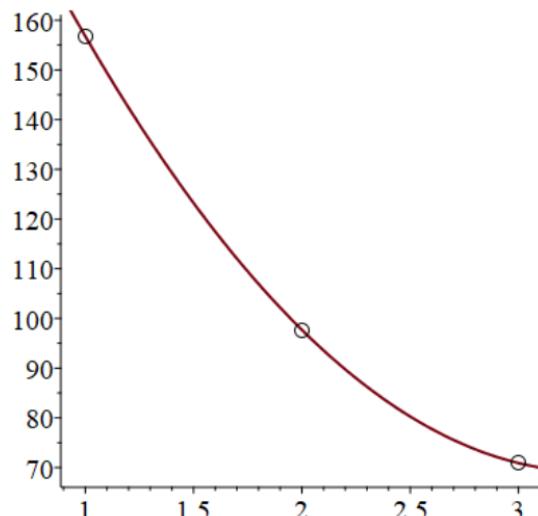


Рис. 2. Взаимосвязь концентрации IL-1 β , IL-2 и прогестерона у женщин во втором триместре беременности с обострением хронического простого бронхита, обусловленного реактивацией ЦМВИ, приводящей к развитию ХСПН.

При математическом анализе вышеуказанные показатели рассчитывались по формуле: $Y = 16.2*x^2 - 107.6*x + 248$.

Можно предположить, что повышение в сыворотке крови IL-1 β у женщин с обострением хронического простого бронхита ЦМВИ этиологии, предопределяющим формирование ХСПН, оказывает стимулирующее влияние на Т-лимфоциты, повышает активность протеинкиназы С и уровень ионов кальция в цитоплазме клетки. IL-1 β одновременно с антигеном инициирует синтез IL-2 и максимально выраженную экспрессию рецепторов к интерлейкину 2 – IL-2R α (CD25), IL-2R β (CD122) и маркеров γ -цепи (CD132) [13]. Это стимулирует пролиферацию В-клеток, синтез иммуноглобулинов, рост и дифференцировку клеточных элементов трофобласта [3], а также развитие вазоспастических реакций [14].

Следует отметить, что у пациенток с обострением хронического простого бронхита при реактивации ЦМВИ во втором триместре гестации, определяющей в последующем развитие ХСПН, в сопоставлении с женщинами, перенесшими хронический простой бронхит в стадии обострения, инициированного острой фазой ЦМВИ, приводящей к ХКПН, более выраженный системный воспалительный ответ и падение уровня прогестерона способствуют повышению ПИ в

ПМА. При этом устанавливаются значимые иммуно-иммунные, иммуно-гормональные и иммуно-допплерометрические связи, определяющие формирование хронической плацентарной дисфункции в третьем триместре беременности.

Выводы

1. Во втором триместре гестации у женщин с хроническим простым бронхитом в стадии обострения, инициированного острой фазой ЦМВИ, приводящей к формированию ХКПН, по сравнению с физиологическим течением беременности, возрастают показатели сывороточного IL-1 β , IL-2 и ПИ в ПМА на фоне отсутствия статистически значимого изменения уровня прогестерона. Это иллюстрирует участие системного воспалительного ответа в изменении регуляции сосудистого сопротивления в бассейне маточной артерии.

2. При обострении хронического простого бронхита во втором триместре беременности, ассоциированном с ЦМВИ и развитием в последующем ХСПН, в отличие от такового у пациенток с аналогичной бронхолегочной патологией, обусловленной реактивацией ЦМВИ и формированием ХКПН, диагностируется более высокое содержание IL-1 β , IL-2 в сыворотке крови и ПИ в ПМА, и более низкая концентрация прогестерона. Изменение иммунных, гормональных и допплерометрических параметров иллюстрирует их важное значение в развитии хронической плацентарной дисфункции более тяжелой степени тяжести в третьем триместре гестации.

3. На 21-24 неделях гестации хронический простой бронхит в стадии обострения, обусловленного реактивацией ЦМВИ, приводящей к развитию ХСПН, по сравнению с обострением хронического простого бронхита, обусловленном реактивацией ЦМВИ, инициирующей формирование ХКПН, регистрируются более тесные корреляционные связи показателя сосудистого сопротивления в ПМА, IL-1 β , IL-2 и прогестерона.

4. У женщин во втором триместре гестации при обострении хронического простого бронхита ЦМВИ этиологии, инициирующей в последующем появление симптомов ХСПН, в сравнении с пациентками с хроническим простым бронхитом в стадии обострения, обусловленного реактивацией ЦМВИ, приводящей развитию ХКПН, в патогенезе плацентарной дисфункции возрастает роль межсистемных интеграционных иммуно-гормональных связей, которые документируются с помощью метода аппроксимации кривой.

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

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V., Ishutina N.A., Gorikov I.N., Dorofienko N.N., Petrova K.K., Prikhodko N.G. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 is a potential marker of inflammation in the trophoblast associated with cytomegalovirus infection // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2019. 99:A6173. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1_MeetingAbstracts.A6173
2. Gorikov I.N., Andrievskaya I.A. Ishutina N.A., Dovzhikova I.V., Petrova K.K., Prikhodko N.G., Pavlenko V.I., Kolosov V.P. Estrogen deficiency and its manifestations in pregnant women with exacerbation of chronic simple bronchitis of cytomegalovirus etiology // Eur. Respir. J. 2021. Vol.58, Iss.65 (Suppl). A1891. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2021.PA1891>
3. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Белоконь В.В., Зима А.П., Жукова О.Б., Наследникова И.О., Литвинова Л.С., Колобовникова Ю.В., Часовских Н.Ю. Цитокины и противовирусный иммунитет // Успехи физиологических наук. 2006. Т.37, №4. С.33–44. EDN: HVLCMB
4. Ломова Н.А., Орджоникидзе Н.В., Ванько Л.В. Синдром системного воспалительного ответа и беременность (обзор литературы) // Акушерство и гинекология. 2012. №1. С.23–27. EDN: PGPFUN
5. Долгушина В.Ф., Долгушин И.И., Курносенко И.В., Лебедева Ю.В. Клинико-иммунологические критерии внутриматочной инфекции // Акушерство и гинекология. 2017. №1. С.40–45. EDN: XVFQNB. <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.1.40-5>
6. Прохоренко Т.С., Саприна Т.В., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Ворожцова И.Н., Мартынова С.Ю., Резцова В.М., Васильева О.А., Латыпова В.Н. Роль интерлейкина-2 и интерлейкина-4 и их рецепторов в иммуноопосредованных механизмах развития аутоиммунного тиреоидита // Сибирский медицинский журнал (Томск). 2011. Т.26, №4-2. С.186–189. EDN: OPZYIN
7. Chen H., Malentacchi F., Fambrini M., Harrath A.H., Huang H., Petraglia F. Epigenetics of estrogen and progesterone receptors in endometriosis // Peprad. Sci. 2020. Vol.27, Iss.11. P.1967–1974. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00226-2>
8. Репина М.А. Прогестерон и беременность // Журнал акушерства и женских болезней. 2011. Т.60, №3. С.130–135. EDN: OFSQVF

9. Стрижаков А.Н., Волощук И.Н., Тимохина Е.В., Козлова У.А. Морфофункциональные изменения в плаценте при плацентарной недостаточности различной степени тяжести // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2010. Т.9, №2. С.5–11. EDN: MUXGML.
10. Милованов А.П. Патология системы мать-плацента-плод: руководство для врачей. М.: Медицина; 1999. 448 с. ISBN: 978-5-225-02775-9
11. Маркина Н.В., Степанова О.А., Шамаева Т.Н., Болотов А.А. Учебное пособие по статистической обработке медико-биологических данных. Челябинск: ЮУГМУ, 2014. 108 с. URL: <https://www.books-up.ru/ru/book/uchebnoe-posobie-po-statisticheskoy-obrabotke-mediko-biologicheskikh-dannyyh-11852324>
12. Воеводин Д.А., Розанова Г.Н. Цитокингормональные взаимодействия: положение об иммуноэндокринной регуляторной системе // Педиатрия. Журнал имени Г.Н.Сперанского. 2006. Т.85, №1. С.95–102. EDN: KZDYRP.
13. Хайтов Р.М. Иммунология: учебник. 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 496 с. ISBN: 978-5-9704-4655-3
14. Проворов В.М., Будневский А.В., Семенкова Г.Г., Шишкина Е.С. Провоспалительные цитокины при сочетании ишемической болезни сердца и хронической обструктивной болезни легких // Клиническая медицина. 2015. Т.93, №2. С.5–9. EDN: TKPJSX.

REFERENCES

1. Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V., Ishutina N.A., Gorikov I.N., Dorofienko N.N., Petrova K.K., Prikhodko N.G. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 is a potential marker of inflammation in the trophoblast associated with cytomegalovirus infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019; 99:A6173. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1_MeetingAbstracts.A6173
2. Gorikov I.N., Andrievskaya I.A. Ishutina N.A., Dovzhikova I.V., Petrova K.K., Prikhodko N.G., Pavlenko V.I., Kolosov V.P. Estrogen deficiency and its manifestations in pregnant women with exacerbation of chronic simple bronchitis of cytomegalovirus etiology. *Eur. Respir. J.* 2021; 58(65 Suppl):A1891. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2021.PA1891>
3. Ryazantseva N.V., Novitskii V.V., Belokon V.V., Zima A.P., Zhukova O.B., Naslednikova I.O., Litvinova L.S., Klobovnikova Yu.V., Chasovskih N.U. [Cytokines and antiviral immunity]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk* 2006; 37(4): 33–44 (in Russian).
4. Lomova N.A., Ordzhonikidze N.V., Vanko L.V. [Systemic inflammatory response syndrome and pregnancy (a review of literature)]. *Obstetrics and Gynecology* 2012; (1):23–27 (in Russian).
5. Dolgushina V.F., Dolgushin I.I., Kurnosenko I.V., Lebedeva Yu.V. [Clinical and immunological criteria of intrauterine infection]. *Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology* 2017; (1):40–45 (in Russian). <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.1.40-5>.
6. Prokhorenko T.S., Saprina T.V., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Vorozhtsova I.N., Martinova S.Yu., Reztsova V.M., Vasilyeva O.A., Latypova V.N. [Role of IL-2 and IL-4, and their receptors in immune mechanisms of autoimmune thyroiditis]. *Siberian Medical Journal (Tomsk)* 2011; 26(4-2):186–189 (in Russian).
7. Chen H., Malentacchi F., Fambrini M., Harrath A.H., Huang H., Petraglia F. Epigenetics of estrogen and progesterone receptors in endometriosis. *Peprod. Sci.* 2020; 27(11):1967–1974. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00226-2>
8. Repina M.A. [Progesterone and pregnancy]. *Journal of Obstetrics and Womens Diseases* 2011; 60(30):130–135 (in Russian).
9. Strizhakov A.N., Voloshchuk I.N., Timokhina E.V., Kozlova U.A. [Morphofunctional changes in the placenta with placental insufficiency of varying severity]. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii* 2010; 9(2):5–11 (in Russian).
10. Milovanov A.P. [Pathology of the mother-placenta-fetus system]. Moscow: Meditsina; 1999 (in Russian). ISBN: 978-5-225-02775-9
11. Markina N.V., Stepanova O.A., Shamaeva T.N., Bolotov A.A. [Biomedical Data Statistical Tutorial]. Chelyabinsk: YuUGMU; 2014 (in Russian). Available at: <https://www.books-up.ru/ru/book/uchebnoe-posobie-po-statisticheskoy-obrabotke-mediko-biologicheskikh-dannyyh-11852324>
12. Voevodin D.A., Rozanova G.N. [Cytokines-hormones interrelation – concept of immune-endocrine regulatory system]. *Pediatrics (Journal named after G.N.Speransky)* 2006; 85(1):95–102 (in Russian).
13. Haitov R.M. [Immunology: textbook]. Moscow: GEOTAR-Media; 2016 (in Russian). ISBN: 978-5-9704-4655-3.
14. Provotorov V.M., Budnevsky A.V., Semenkova G.G., Shishkina E.S. [Proinflammatory cytokines in combination of coronary heart disease and chronic obstructive pulmonary disease]. *Klin. Med. (Mosk)* 2015; 93(2):5–9 (in Russian). PMID: 26117912.

Информация об авторах:

Леонид Гиршевич Нахамчен, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Игорь Николаевич Гориков, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Виктор Павлович Колосов, академик РАН, д-р мед. наук, профессор, научный руководитель Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: kolosov@amur.ru

Андрей Николаевич Одиреев, д-р мед. наук, зав. лабораторией профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: bulleten.fpd@mail.ru

Ирина Анатольевна Андриевская, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

Наталья Александровна Ишутина, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ishutina-na@mail.ru

Александр Вениаминович Бушманов, канд. техн. наук, доцент, зав. кафедрой информационных и управляющих систем, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Амурский государственный университет»; e-mail: ciis@amursu.ru

Инна Викторовна Довжикова, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dov_kova100@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8938-3594>

Поступила 28.09.2022
Принята к печати 20.10.2022

Author information:

Leonid G. Nakhamchen, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Igor' N. Gorikov, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Victor P. Kolosov, MD, PhD, DSc (Med.), Academician of RAS, Professor, Scientific Director, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: kolosov@amur.ru

Andrey N. Odireev, MD, PhD, DSc (Med.), Head of Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: bulleten.fpd@mail.ru

Irina A. Andrievskaya, PhD, DSc (Biol.), Professor of RAS, Head of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

Natalia A. Ishutina, PhD, DSc (Biol.), Leading Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ishutina-na@mail.ru

Aleksandr V. Bushmanov, PhD (Tech.), Associate Professor, Head of Department of Information and Control Systems, Amur State University, e-mail: ciis@amursu.ru

Inna V. Dovzhikova, PhD, DSc (Biol.), Leading Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dov_kova100@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8938-3594>

Received September 28, 2022
Accepted October 20, 2022

УДК 618.36-06:611.013]576.31:578.825.12:616-036.65

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-80-90

**МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ КОТИЛЕДОНОВ С
НЕКОНТРАСТИРОВАННЫМИ КРОВЕНОСНЫМИ СОСУДАМИ В ПЛАЦЕНТАХ У
ЖЕНЩИН, ПЕРЕНЕСШИХ ОБОСТРЕНИЕ МОНО- И МИКСТ-
ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ВО ВТОРОМ ТРИМЕСТРЕ
БЕРЕМЕННОСТИ**

И.Н.Гориков

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

РЕЗЮМЕ. Цель. Оценить морфологическое строение котиледонов с неконтрастированными кровеносными сосудами в плацентах у женщин, перенесших обострение моно- и микст-цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) во втором триместре беременности. **Материалы и методы.** Исследовались гистометрические параметры ворсин при различной визуализации на рентгенофлебограммах кровеносных сосудов в 112 котиледонах плацент у женщин с беременностью, неосложненной и осложненной моно- и микст-ЦМВИ (сочетание ЦМВИ и реактивации хронической герпес-вирусной инфекции ВПГ 1 типа). В первую группу (контрольную) были включены 36 котиледонов с четким контрастированием сосудистого русла в плацентах от женщин с неосложненным течением гестационного периода. Основная группа была представлена 76 котиледонами: подгруппа 2а – 24 котиледона, в которых не выявлялось кровеносное русло в плацентах от пациенток с обострением моно-ЦМВИ, ассоциированной с хронической субкомпенсированной плацентарной недостаточностью (ХСПН); подгруппа 2б – 16 котиледонов с не диагностированными при рентгенофлебографии кровеносными сосудами в плацентах от женщин с микст-ЦМВИ, инициирующей развитие ХСПН; подгруппа 3а – 21 котиледон с неконтрастированным кровеносным руслом в плацентах от пациенток с обострением моно-ЦМВИ и хронической декомпенсированной плацентарной недостаточностью (ХДПН); подгруппа 3б – 15 котиледонов, имеющих аналогичную ангиографическую картину в плацентах от женщин, перенесших обострение микст-ЦМВИ во втором триместре гестации и ХДПН. Идентификация котиледонов с четкой визуализацией кровеносных сосудов и с неконтрастированным сосудистым руслом в краевой части плаценты проводилась посредством дозированного введения свинцовового суртика на олифе (1:3) через вену пуповины и оценки ангиографической картины на рентгенограммах, которые получали с помощью аппарата РУМ-20М с УРИ Сапфир (Россия). Для гистологического анализа кусочки тканей забирались в тех же местах до и после нагнетания контрастной массы в кровеносное русло органа, на поврежденные участки которого накладывались зажимы. **Результаты.** В первой группе котиледоны имели четкие контуры кровеносных сосудов и дренирующей их вены. Бессосудистые ворсины (БВ) составляли $2,05 \pm 0,22\%$, ворсины с синцитиокапиллярными мембранными (СКМ) – $33,5 \pm 2,41\%$, ворсины с одной (1) СКМ – $77,1 \pm 2,07\%$, с двумя (2) СКМ – $20,9 \pm 1,98\%$ и с тремя (3) СКМ – $1,42 \pm 0,09\%$. В подгруппе 2а по сравнению с первой группой отмечалась деформация просвета вены стволовых ворсин I и II порядка, в которой определялись агрегаты эритроцитов, единичные лейкоциты и редко тромбы, а также признаки отека и частичной десквамации эндотелиоцитов, фибринOIDные и воспалительные изменения стенки сосудов. Возрастало число БВ (в 6,87 раза, $p < 0,001$) и снижалось количество ворсин с СКМ (в 2,05 раза, $p < 0,001$) при отсутствии значимых различий ворсин с 1, 2 и 3 СКМ. В подгруппе 2б в сопоставлении с подгруппой 2а чаще встречалась умеренная складчатость эндотелия, участки его частичного слущивания, БВ (в 1,39 раза,

Контактная информация

Игорь Николаевич Гориков, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Correspondence should be addressed to

Igor' N. Gorikov, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: dncfpd@dcfpd.ru

Для цитирования:

Гориков И.Н. Морфологическое строение котиледонов с неконтрастированными кровеносными сосудами в плацентах у женщин, перенесших обострение моно- и микст-цитомегаловирусной инфекции во втором триместре беременности // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.80–90. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-80-90

For citation:

Gorikov I.N. Morphological structure of cotyledons with non-contrasted blood vessels in the placenta of women who had an exacerbation of mono- and mixed-cytomegalovirus infection in the second trimester of pregnancy. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (86):80–90 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-80-90

p<0,01) и ворсины с 2 СКМ (в 1,44 раза, p<0,05) на фоне падения содержания ворсин с 1 СКМ (в 1,19 раза, p<0,05). В подгруппе 3б обнаруживалось большее количество сосудов, не обеспечивающих отток крови из котиледонов (12, p<0,001) и имеющих дугообразную форму (10, p<0,001) по сравнению с подгруппой 3а, где их число составляло, соответственно, 3 (p<0,001) и 2 (p<0,001). Определялась более выраженная складчатость эндотелиальной выстилки, а также агрегаты, нейтрофилы, лимфоциты и тромбы в просвете сосудов. Отмечалось повышение процентного содержания ворсин с 1 СКМ (в 1,13 раза, p<0,05), а также снижение частоты встречаемости ворсин с 2 СКМ (в 1,67 раза, p<0,05) и 3 СКМ (в 2,13 раза, p<0,001). В котиледонах подгруппы 3б в отличие от таковых подгруппы 2б чаще встречались слепо заканчивающиеся сосуды (в 2 раза, p<0,05), дугообразный ход вен (в 2,5 раза, p<0,05), деформация просвета, гиперхромия ядра и тотальная десквамация клеток, тромбы с кальцификацией, полная и частичная облитерация просвета артерий, воспаление, фибринOIDная деградация мышечного слоя сосудов и отложение в нем солей кальция, а также БВ (в 1,29 раза, p<0,05) и ворсины с 1 СКМ (в 1,40 раза, p<0,001); реже выявлялись ворсины с СКМ (в 1,35 раза, p<0,05), с 2 СКМ (в 2,78 раза, p<0,001) и 3 СКМ (в 1,57 раза, p<0,05). **Заключение.** У женщин с обострением микст-ЦМВИ во втором триместре гестации и ХДПН в отличие от пациенток с реактивацией моно-ЦМВИ, приводящей к ХДПН, в котиледонах с не визуализированными кровеносными сосудами более выражены ангиодеструктивные и ангиообструктивные процессы, а также угнетение ангиогенеза. Это повышает сосудистое сопротивление и блокирует поступление контрастной массы при её дозированном нагнетании в сосудистое русло плаценты.

Ключевые слова: цитомегаловирусная инфекция, сочетанная цитомегаловирусно-герпетическая инфекция, беременность, хроническая плацентарная недостаточность, плацента, котиледоны, кровеносные сосуды.

MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF COTYLEDONS WITH NON-CONTRASTED BLOOD VESSELS IN THE PLACENTA OF WOMEN WHO HAD AN EXACERBATION OF MONO- AND MIXED-CYTOMEGALOVIRUS INFECTION IN THE SECOND TRIMESTER OF PREGNANCY

I.N.Gorikov

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

SUMMARY. Aim. To assess the morphological structure of cotyledons with non-contrasted blood vessels in the placentas in women who had an exacerbation of mono- and mixed cytomegalovirus infection (CMVI) in the second trimester of pregnancy. **Materials and methods.** The histometric parameters of the villi were studied with different visualization on X-ray phlebograms of blood vessels in 112 cotyledons of placentas in women with pregnancy, uncomplicated and complicated by mono- and mixed-CMVI (combination of CMVI and reactivation of chronic herpes virus infection type 1 HSV). The first group (control) included 36 cotyledons with a clear contrasting of the vascular bed in the placentas from women with an uncomplicated gestational period. The main group was represented by 76 cotyledons: subgroup 2a – 24 cotyledons, in which the bloodstream was not detected, in placentas from patients with exacerbation of mono-CMVI associated with chronic subcompensated placental insufficiency (CSPI); subgroup 2b – 16 cotyledons with blood vessels not diagnosed by X-ray phlebography, in placentas from women with mixed CMVI infection, initiating the development of CSPI; subgroup 3a – 21 cotyledons with non-contrasted bloodstream in placentas from patients with exacerbation of mono-CMVI and chronic decompensated placental insufficiency (CDPI); subgroup 3b – 15 cotyledons with a similar angiographic picture in placentas from women who had an exacerbation of mixed CMVI in the second trimester of gestation and CDPI. Identification of cotyledons with a clear visualization of blood vessels and with a non-contrasted vascular bed in the marginal part of the placenta was carried out by dosed administration of minium on linseed oil (1:3) through the vein of umbilical cord and assessment of the angiographic picture on X-ray, which were obtained using the RUM-20M apparatus with X-ray image amplifier Sapphire (Russia). For histological analysis, tissue pieces were taken in the same places before and after injection of the contrast mass into the bloodstream of the organ, on the damaged areas of which clamps were applied. **Results.** In the first group, the cotyledons had clear contours of the blood vessels and the vein draining them. Avascular villi (AV) accounted for $2.05 \pm 0.22\%$, villi with syncytiocapillary membranes (SCM) – $33.5 \pm 2.41\%$, villi with one (1) SCM – $77.1 \pm 2.07\%$, with two (2) SCM – $20.9 \pm 1.98\%$ and with three (3) SCM – $1.42 \pm 0.09\%$. In subgroup 2a, compared with the first group, there was a deformation of the lumen of the vein of the stem villi of the I and II order, in which erythrocyte aggregates, single leukocytes and rarely thrombi were determined, as well as signs of edema and partial desquamation of endotheliocytes, fibrinoid and inflammatory changes in the vessel wall. The number of AV increased (by 6.87 times, p<0.001) and the number of villi with SCM decreased (by 2.05 times, p<0.001) with no significant differences between villi with 1, 2, and 3 SCMs. In subgroup 2b, in comparison with subgroup 2a, moderate folding of the endothelium, areas of its partial desquamation, AV (1.39 times, p<0.01) and villi with 2 SCMs (1.44 times, p<0.05) were more common against the background of a decrease in the concentration of villi with 1 SCM (by 1.19 times, p<0.05). In subgroup 3b, a greater number of vessels were found that did not provide outflow of blood from cotyle-

dons (12, $p<0.001$) and had an arcuate shape (10, $p<0.001$) compared with subgroup 3a, where their number was, respectively, 3 ($p<0.001$) and 2 ($p<0.001$). A more pronounced folding of the endothelial lining was determined, as well as aggregates, neutrophils, lymphocytes and thrombi in the lumen of the vessels. There was an increase in the percentage of villi with 1 SCM (by 1.13 times, $p<0.05$), as well as a decrease in the frequency of occurrence of villi with 2 SCM (by 1.67 times, $p<0.05$) and 3 SCM (by 2.13 times, $p<0.001$). In cotyledons of subgroup 3b, in contrast to those of subgroup 2b, blindly ending vessels were more common (2 times, $p<0.05$), arcuate course of veins (2.5 times, $p<0.05$), lumen deformity, hyperchromia of the nucleus and total desquamation of cells, thrombi with calcification, complete and partial obliteration of the arterial lumen, inflammation, fibrinoid degradation of the muscular layer of vessels and the deposition of calcium salts in it, as well as AV (1.29 times, $p<0.05$) and villi with 1 SCM (1.40 times, $p<0.001$); less often villi were detected with SCM (1.35 times, $p<0.05$), with 2 SCM (2.78 times, $p<0.001$) and 3 SCM (1.57 times, $p<0.05$). **Conclusion.** In women with exacerbation of mixed CMVI in the second trimester of gestation and CDPI, in contrast to patients with reactivation of mono-CMVI leading to CDPI, angiolytic and angioobstructive processes, as well as inhibition of angiogenesis, are more pronounced in cotyledons with non-visualized blood vessels. This increases vascular resistance and blocks the flow of the contrast mass during its dosed injection into the vascular bed of the placenta.

Key words: cytomegalovirus infection combined cytomegalovirus-herpetic infection, pregnancy, chronic placental insufficiency, placenta, cotyledons, blood vessels.

В патогенезе внутриплацентарных гемодинамических расстройств важная роль отводится нарушению транспортной функции вен плодной части органа и кровеносных сосудов стволовых ворсин, участвующих в поддержании функционального состояния системы мать-плацента-плод [1]. Ведущими этиологическими причинами плацентарной дисфункции у беременных является реактивация хронической цитомегаловирусной (ЦМВИ) и герпесвирусной инфекции (вирус простого герпеса – ВПГ 1 и 2 типа) [2, 3], инициирующих угнетение синтеза гормонов [4], нарушение строения венозной стенки [5] и гематоплацентарного барьера [6]. Доказано, что при ЦМВИ, сочетающейся с ВПГ 1 и 2 типа, у женщин в период гестации в плаценте регистрируются более выраженные альтеративно-деструктивные изменения [7]. Несмотря на известное значение моно- и микст-ЦМВИ в поражении кровеносного русла, до настоящего времени не установлены причины, блокирующие поступление контраста в кровеносное русло котиледонов краевой части плаценты при его дозированном введении через вену пуповины у женщин, перенесших хроническую субкомпенсированную (ХСПН) и декомпенсированную плацентарную недостаточность (ХДПН) инфекционного генеза.

Цель работы – оценить морфологическое строение котиледонов с неконтрастированными кровеносными сосудами в плацентах у женщин, перенесших обострение моно- и микст-ЦМВИ во втором триместре беременности.

Материалы и методы исследования

Основная группа была представлена 76 котиледонами: подгруппа 2а – 24 котиледона, в которых не выявлялось кровеносное русло, в плацентах от пациенток с обострением моно-ЦМВИ, ассоциированной с хронической субкомпенсированной плацентарной недостаточностью (ХСПН); подгруппа 2б – 16 котиледонов с не диагностированными при рентгенофлебографии кровеносными сосудами, в плацентах от женщин с микст-ЦМВИ, инициирующих развитие ХСПН; под-

группа 3а – 21 котиледон с неконтрастированным кровеносным руслом в плацентах от пациенток с обострением моно-ЦМВИ и хронической декомпенсированной плацентарной недостаточностью (ХДПН); подгруппа 3б – 15 котиледонов, имеющих аналогичную ангиографическую картину в плацентах от женщин, перенесших обострение микст-ЦМВИ во втором триместре гестации и ХДПН.

Исследовалось морфологическое строение кровеносных сосудов ворсин 112 котиледонов с хорошо контрастированным и не контрастированным кровеносным руслом в плацентах от женщин с беременностью, неосложненной и осложненной обострением моно- и микст-ЦМВИ (сочетание ЦМВИ и реактивации хронической герпесвирусной инфекции ВПГ 1 типа) во втором триместре гестации. В первую группу вошли 36 котиледонов с хорошо визуализированными кровеносными сосудами в плацентах от женщин с ЦМВ-негативной неосложненной беременностью. Вторая группа была представлена 40 котиледонами с неконтрастированными кровеносными сосудами, среди которых выделялись две подгруппы: подгруппа 2а – 24 котиледона, в которых не выявлялось кровеносное русло в плацентах от пациенток с обострением моно-ЦМВИ и ХСПН; подгруппа 2б – 16 котиледонов, в которых при рентгенофлебографии не выявлялись кровеносные сосуды в плацентах от женщин с микст-ЦМВИ, инициирующей развитие ХСПН. В третью группу были включены 36 котиледонов, которые были разделены на две подгруппы: подгруппа 3а – 21 котиледон с неконтрастированным кровеносным руслом в плацентах от пациенток с обострением моно-ЦМВИ и ХДПН; подгруппа 3б – 15 котиледонов, имеющих аналогичную ангиографическую картину в плацентах от женщин, перенесших обострение микст-ЦМВИ во втором триместре гестации и ХДПН. У всех женщин беременность закончилась родами в срок.

Ангиографическая патология котиледонов диагностировалась после дозированного введения свинцового сурика на олифе 1:3 шприцем через вену пупочного ка-

натика [8] на рентгенограммах, которые получали с помощью аппарата РУМ-20М с УРИ Сапфир (Россия). В котиледонах краевого участка плаценты перед нагнетанием контрастной массы и после этой манипуляции забирались биоптаты для оценки общего плана строения и гистометрии кровеносных сосудов ворсин. На участки поврежденных тканей органа накладывались анатомические зажимы. При рентгенофлебографии в котиледонах с различным контрастированием кровеносного русла обращалось внимание на их строение: 1) нечеткость контуров; 2) степень визуализации сосудов в центральной, парacentральной и краевой частях органа; 3) количество слепо заканчивающихся вен (феномен «ампутации»); 4) число вен, имеющих дугообразную форму. При гистологическом анализе оценивались следующие морфологические особенности сосудов: 1) увеличение складчатости эпителиальной выстилки, приводящей к деформации просвета вены стволовых ворсин I и II порядка; 2) агрегаты эритроцитов, лейкоцитов и тромбов в просвете сосудов; 3) строение эндотелия (отек, гиперхромия ядра, десквамация); 4) сужение просвета артерий; 5) степень выраженности дилатации вены; 6) утолщение, фибринOIDная деградация и воспаление стенки кровеносных сосудов.

Верификация обострения ЦМВИ у женщин на 21–24 неделях гестации осуществлялась с использованием молекулярно-генетических и иммуноферментных методов.

Степень тяжести хронической плацентарной недостаточности устанавливали с помощью исследования функциональных параметров системы мать-плацента-плод [9] и морфологических показателей плаценты [10].

Для проведения морфометрического исследования кусочки плаценты фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезвоживали в спиртах и заливали в парафин. Гистологические срезы 5–7 мкм окрашивали гематоксилином-эозином для определения процентного содержания терминальных бессосудистых ворсин (БВ), ворсин с синцитиокапиллярными мембранами (СКМ), а также с 1, 2 и 3 и более СКМ (%). Вышеуказанные морфометрические показатели рассчитывались на 500 ворсин в каждой плаценте на микроскопе Micros (Австрия).

При проведении обследования соблюдались этические принципы Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта» с поправками 2013 г. и Правила клинической надлежащей практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава РФ №200н от 1 апреля 2016 г.). Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике при ДНЦ ФПД. Все женщины подписали добровольное информированное согласие.

Статистические исследования осуществлялись с использованием программы Statistica 10.0. Различия считались статистически достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В первой группе котиледоны сохраняли свои контуры, имели хорошо визуализированную вену, обеспечивающую отток крови, а также кровеносные сосуды в их центральной, парacentральной и краевой частях. Только в 1 котиледоне выявлялись признаки «ампутации» дренирующего его сосуда. Обнаружение на рентгенофлебограмме слепо заканчивающейся вены, по-видимому, связано с облитерацией её просвета отечным, пролиферирующим эндотелием или тромбом. В 2 наблюдениях диагностировалось дугообразное расположение венозных корней в краевой части органа (табл. 1). В просвете вены и артерий стволовых ворсин I и II порядка выявлялись единичные эритроциты и лейкоциты. Редко встречались полнокровие и агрегаты, умеренная складчатость эндотелиальной выстилки, отек и частичное слущивание клеток эндотелия, вены с просветом, облитерированным тромбом, а также артерии с утолщением стенки, обусловленным отеком и отложением фибринOIDа. При гистометрическом анализе бессосудистые ворсины (БВ) составляли $2,05 \pm 0,22\%$, терминальные анатомические формы с СКМ – $33,5 \pm 2,41\%$, ворсины с одной (1) СКМ – $77,1 \pm 2,07\%$, с двумя (2) СКМ – $20,9 \pm 1,98\%$ и с тремя (3) СКМ – $1,42 \pm 0,09\%$ (табл. 3). Морфологическое строение ворсин хориона создавало идеальные условия для доставки кислорода и метаболитов к внутриутробному плоду, а также обеспечивало дозированное поступление контрастной массы в исследуемые кровеносные сосуды проксимального и дистального отделов ворсинчатого дерева.

В подгруппе 2а в сопоставлении с первой группой не визуализировались контуры котиледонов и отмечались менее четкие контуры сосудов (рис. 1). Количество слепо заканчивающихся корней, а также маргинально расположенных дугообразных вен статистически значимо не различалось по сравнению с контролем (табл. 1).

В вене стволовых ворсин I и II порядка регистрировалась умеренная складчатость эндотелиальной выстилки, а в её просвете возрастило количество агрегатов эритроцитов и единичных лейкоцитов. Определялись признаки отека и частичной десквамации эндотелиоцитов, фибринOIDные и воспалительные изменения стенки сосудов. Редко встречались тромбы. Наблюдалось увеличение числа БВ (в 6,87 раза, $p < 0,001$) и падение процентного содержания ворсин с СКМ (в 2,05 раза, $p < 0,001$) при отсутствии значимых различий ворсин с 1, 2 и 3 СКМ (табл. 3).

Таблица 1

Рентгенофлебографическая характеристика котиледонов с хорошо контрастированным и неконтрастированным кровеносным руслом в краевой части плаценты у женщин с ХСПН (абс.)

Показатели	Первая группа	Подгруппа 2а	Подгруппа 2б
Котиледоны с нечёткими контурами	-		16
Котиледоны с феноменом «ампутации» дренирующих венозных сосудов	1	2 $p>0,05$	6 $p<0,001; p_1<0,05$
Образование дугообразных венозных корней между двумя котиледонами	2	3 $p>0,05$	4 $p>0,05; p_1>0,05$

Примечание: Здесь и далее в таблицах: p – уровень значимости различий с показателями первой группы; p_1 – уровень значимости различий между показателями исследуемых подгрупп.

В подгруппе 2б по сравнению с контролем на рентгенофлебограмме в 6 раз чаще диагностировали феномен «ампутации» вены, дренирующей котиледон ($p<0,001$) и не выявлялись различия вен 3 порядка с извитым ходом (рис. 2, табл. 1). Отмечалась более значимая деформация просвета вены стволовых ворсин, увеличение БВ в 9,56 раза ($p<0,001$) и ворсин с 2 СКМ в 1,76 раза ($p<0,001$) при падении количества ворсин с СКМ в 2,51 раза ($p<0,001$) и с 1 СКМ в 1,25 раза ($p<0,001$) (табл. 3).

Морфологические различия котиледонов под-

группы 2б от таковых в подгруппе 2а заключались в частом выявлении складчатости эндотелиального слоя в вене стволовых ворсин I и II порядка, а также тромбов, приводящих к сужению просвета сосуда. Определялись признаки фибринOIDной деградации мышечного слоя и локусы воспаления в артериях и вене. Возрастало число БВ в 1,39 раза ($p<0,01$) и ворсин с 2 СКМ в 1,44 раза ($p<0,05$), а также снижалось количество ворсин с 1 СКМ (в 1,19 раза, $p<0,05$) (табл. 3).

Таблица 2

Рентгенофлебографическая характеристика котиледонов с хорошо контрастированным и неконтрастированным кровеносным руслом в краевой части плаценты у женщин с ХДПН (абс.)

Показатели	Первая группа	Подгруппа 3а	Подгруппа 3б
Котиледоны с нечёткими контурами	-	21	15
Котиледоны с феноменом «ампутации» дренирующих венозных сосудов	1	3 $p>0,05$	12 $p<0,001; p_1<0,001$
Образование дугообразных венозных корней между двумя котиледонами	2	2 $p>0,05$	10 $p<0,001; p_1<0,001$

Таблица 3

Рентгенофлебографическая характеристика котиледонов с хорошо контрастированным и неконтрастированным кровеносным руслом в краевой части плаценты у женщин с ХДПН (абс.)

Показатели	Первая группа	Подгруппа 2а	Подгруппа 2б
Количество БВ, %	$2,05\pm0,22$	$14,1\pm1,10$ $p<0,001$	$19,6\pm1,65$ $p<0,001; p_1<0,01$
Количество терминальных ворсин с СКМ, %	$33,5\pm2,41$	$16,3\pm1,36$ $p<0,001$	$13,3\pm1,36$ $p<0,001; p_1<0,05$
Количество терминальных ворсин с 1 СКМ, %	$77,1\pm2,07$	$73,3\pm3,27$ $p>0,05$	$61,2\pm3,28$ $p<0,001; p_1<0,05$
Количество терминальных ворсин с 2 СКМ, %	$20,9\pm1,98$	$25,5\pm3,15$ $p>0,05$	$36,8\pm3,22$ $p<0,001; p_1<0,05$
Количество терминальных ворсин с 3 СКМ, %	$1,42\pm0,09$	$1,58\pm0,19$ $p>0,05$	$1,69\pm0,24$ $p>0,05; p_1>0,05$

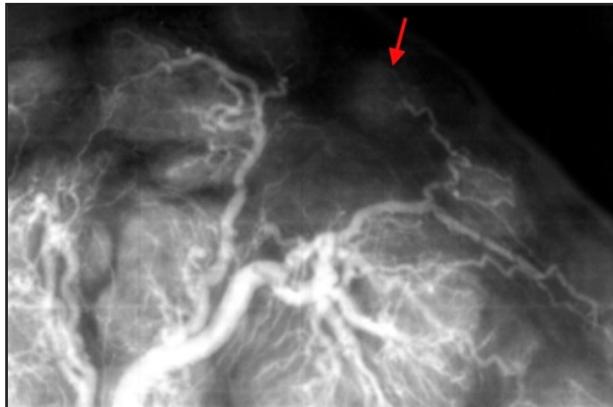


Рис . 1. Фрагмент рентгенофлебограммы краевой части плаценты. Отсутствие контуров котиледона и контраст в центральных, паракентральных и краевых внутрикотиледонных сосудах (указан стрелкой). Слабо визуализируется дренирующая его вена. Женщина с обострением моно-ЦМВИ во втором триместре беременности. ХСПН. Контрастирование: свинцовый сурик на олифе (1:3).

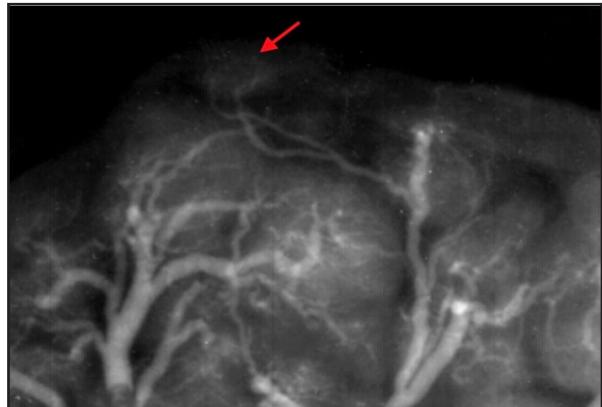


Рис . 2. Фрагмент рентгенофлебограммы краевой части плаценты. Отсутствуют контуры котиледона и контрастная масса в его кровеносных сосудах. Слабо контрастируется дренирующая его слепо заканчивающаяся вена (указана стрелкой). Женщина с обострением микст-ЦМВИ во втором триместре беременности. ХСПН. Контрастирование: свинцовый сурик на олифе (1:3).



В котиледонах подгруппы За в отличие от первой группы не изменялось количество вен, обеспечивающих отток крови, а также вен дугообразной формы (табл. 2). Часто обнаруживались десквамированные эндотелиальные клетки, агрегаты эритроцитов и лейкоциты в просвете вен и артерий крупных ворсин. Регистрировалось повышение процентного содержания БВ (в 9,31 раза, $p<0,001$) и ворсин с 3 СКМ (в 1,60 раз, $p<0,001$) (табл. 4).

Морфологически в котиледонах подгруппы 3б в сравнении с контролем визуализация феномена ампутации вен возрасала в 12 раз ($p<0,001$), а сосудов с дугообразным ходом – в 5 раз ($p<0,001$) (табл. 2). В стволовых ворсинах I и II порядка отмечалось увеличение деформации просвета вены, агрегации и тромбообразования. Диагностировалось повышение процентного содержания БВ в 12,3 раза ($p<0,001$) и ворсин с 1 СКМ в 1,11 раза ($p<0,01$), а также падение числа ворсин с СКМ в 2,91 раза ($p<0,001$), ворсин с 2 СКМ в 1,58 раза ($p<0,05$) и с 3 СКМ в 1,32 раза ($p<0,01$).

Рис . 3. Фрагмент рентгенофлебограммы краевой части плаценты. Не выявляются контуры котиледонов и кровеносных сосудов. Феномен «ампутации» венозных корней в воротах котиледонов (одна стрелка). Дугообразный ход вены (две стрелки). Женщина с обострением микст-ЦМВИ во втором триместре беременности. ХДПН. Контрастирование: свинцовый сурик на олифе (1:3).

(табл. 4).

Подгруппа 3б в сравнении с подгруппой За характеризовалась ростом числа слепо заканчивающихся венозных корней (в 4 раза, $p<0,001$) и сосудов, имеющих дугообразный ход (в 5 раз, $p<0,001$) (рис. 3, табл. 2). В просвете большинства кровеносных сосудов выявлялись агрегаты эритроцитов, нейтрофилы и лимфоциты. Отмечалось увеличение БВ в 1,32 раза ($p<0,01$) и ворсин с 1 СКМ (в 1,13 раза, $p<0,05$), а также снижение ворсин с 2 СКМ (в 1,67 раза, $p<0,05$) и с 3 СКМ (в 2,13 раза, $p<0,001$) (табл. 4), что указывало на нарушение их васкуляризации, приводящее к снижению основных функций фетоплacentарного комплекса. В подгруппе 3б увеличивалось количество эндотелиоцитов с гиперхромными ядрами (рис. 5), участков оголения базальной мембранны в результате полного слущивания клеточных элементов, тромбов (рис. 6, 8), дилатации вены (рис. 5), частичного сужения или облитерации просвета артерий (рис. 7). По-видимому, ослабление барьера функции эндотелия снижало защиту глад-

комышечных клеток от вазоконстрикторных факторов и инициировало проникновение белков плазмы крови

в стенку кровеносных сосудов [11].

Таблица 4

Изменение содержания бессосудистых терминальных ворсин (БВ), ворсин с синцитиокапиллярными мембранными (СКМ), с 1, 2 и 3 СКМ в котиледонах с хорошо контрастированным и неконтрастированным кровеносным руслом краевой части плаценты у женщин с ХДПН ($M \pm m$)

Показатели	Первая группа	Подгруппа 3а	Подгруппа 3б
Количество БВ, %	$2,05 \pm 0,22$	$19,1 \pm 1,58$ $p < 0,001$	$25,4 \pm 1,46$ $p < 0,001; p_1 < 0,01$
Количество терминальных ворсин с СКМ, %	$33,5 \pm 2,41$	$16,1 \pm 1,52$ $p < 0,01$	$11,5 \pm 0,84$ $p < 0,001; p_1 < 0,01$
Количество терминальных ворсин с 1 СКМ, %	$77,1 \pm 2,07$	$75,8 \pm 3,04$ $p > 0,05$	$85,7 \pm 2,04$ $p < 0,01; p_1 < 0,05$
Количество терминальных ворсин с 2 СКМ, %	$20,9 \pm 1,98$	$22,1 \pm 2,98$ $p > 0,05$	$13,2 \pm 2,07$ $p < 0,05; p_1 < 0,05$
Количество терминальных ворсин с 3 СКМ, %	$1,42 \pm 0,09$	$2,28 \pm 0,17$ $p < 0,001$	$1,07 \pm 0,07$ $p < 0,01; p_1 < 0,001$

Вышеуказанные процессы сопровождались накоплением в сосудистой стенке фибринолиза, а также мигрирующих нейтрофилов и лимфоцитов (рис. 4).

Полученные морфологические результаты позволяют утверждать, что образование аваскулярных форм, четко выраженное снижение числа конечных ворсин с СКМ и нарушение формирования гематоплацентарного барьера ассоциировано с изменением структур-

ной организации стенки вены и артерий стволовых ворсин I и II порядка. Это иллюстрировало тесную функциональную связь вен, обеспечивающих отток крови из дистальных и проксимальных отделов ворсинчатого дерева, а также вен, дренирующих внутрикотиледонную сосудистую сеть в краевой части плаценты.

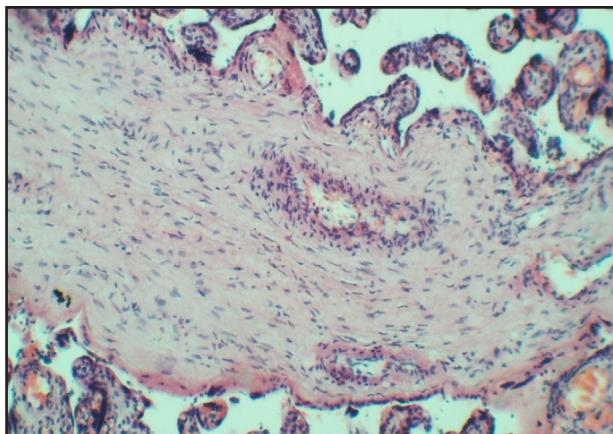


Рис . 4. Котиледон плаценты с неконтрастированными кровеносными сосудами. Стволовая ворсина с утолщением стенки вены, в которой определяются мигрирующие лимфоциты и нейтрофилы. Женщина с обострением микст-ЦМВИ во втором триместре беременности. ХДПН. Окрашивание: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 300$.

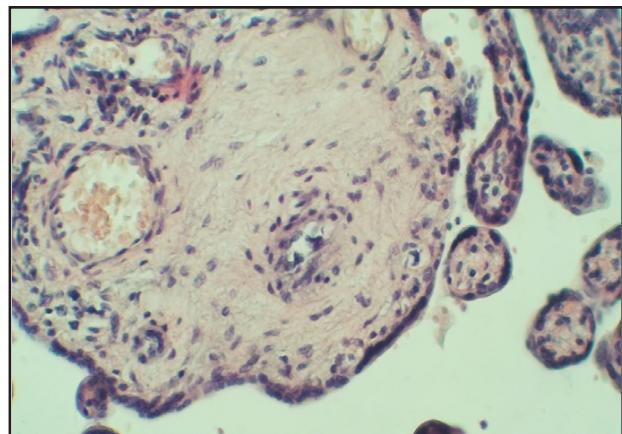


Рис . 5. Котиледон плаценты с неконтрастированными кровеносными сосудами. Стволовая ворсина с дилатацией просвета вены. Сужение просвета артерии, в которой отмечается гиперхромия ядер эндотелиоцитов. Женщина с обострением микст-ЦМВИ во втором триместре беременности. ХДПН. Окрашивание: гематоксилин и эозин. Ув. $\times 300$.

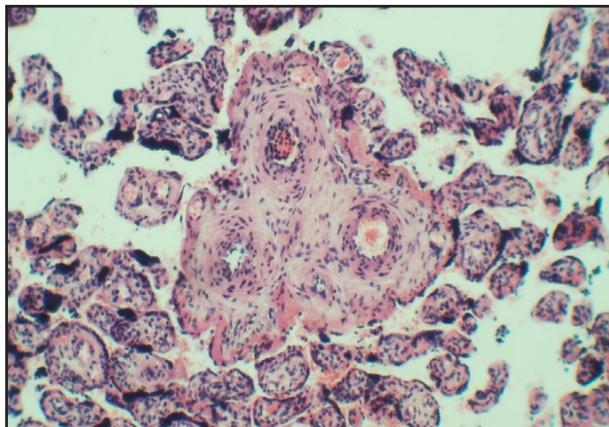


Рис . 6. Котиледон плаценты с неконтрастированными кровеносными сосудами. В просвете вены определяются агрегаты и тромбы на фоне утолщения стенки кровеносного сосуда. ФибринOIDНЫЙ некроз стромы и синцитиотрофобласта. Женщина с обострением микст-ЦМВИ во втором триместре беременности. ХДПН. Окрашивание: гематоксилин и эозин. Ув. \times 300.

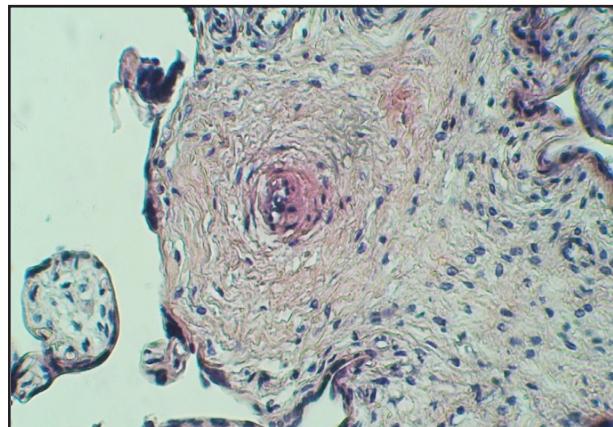


Рис . 7. Котиледон плаценты с неконтрастированными кровеносными сосудами. В артерии стволовой ворсинки отмечается сужение и частичная облитерация просвета, а также утолщение и фибринOIDное изменение её стенки. Женщина с обострением микст-ЦМВИ во втором триместре беременности. ХДПН. Окрашивание: гематоксилин и эозин. Ув. \times 600.



Рис . 8. Котиледон плаценты с неконтрастированными кровеносными сосудами. В просвете вены стволовой ворсинки определяется тромб в состоянии кальцификации. Женщина с обострением микст-ЦМВИ во втором триместре беременности. ХДПН. Окрашивание: гематоксилин и эозин. Ув. \times 300.

Важно отметить, что нарушение транспортной функции вен стволовых ворсин замедляет доставку кислорода и метаболитов к внутриутробному пациенту, а также инициирует резко выраженное полнокровие, агрегацию форменных элементов крови и снижение оксигенации клеток-мишеней (синцитиотрофобласта, эндотелиоцитов и перицитов капилляров, а также фибробластов стромы терминальных ворсин). Поражение артерий стволовых ворсин способствует снижению выведения из организма плода углекислого газа и недоокисленных продуктов его обмена веществ, ингибирующих рост и дифференцировку синцития, эндотелиальных и соединительноклеточных элементов в ворсинах хориона [1, 10].

Подгруппа 3б отличалась от подгруппы 2б ростом количества вен с феноменом «ампутации» (в 2 раза, $p<0,05$) и дугообразных сосудов (в 2,5 раза, $p<0,05$) (рис. 3, табл. 2). Последние чаще выявлялись между соседними котиледонами, возможно, в результате на-

рушения ангио- и стромогенеза на фоне преобладания инволютивно-дистрофических процессов, инициирующих формирование венозных анастомозов в краевой части органа. Чаще встречались складчатость эндотелиальной выстилки, гиперхромия ядра, тотальная десквамация клеток и тромбы, полная и частичная облитерация просвета артерий, признаки флебита, артерита, фибринOIDные изменения и отложения солей кальция в стенке сосудов, а также БВ (в 1,29 раза, $p<0,05$), и ворсины с 1 СКМ (в 1,40 раза, $p<0,001$), реже выявлялись ворсины с СКМ (в 1,35 раза, $p<0,05$), с 2 СКМ (в 2,78 раза, $p<0,001$) и 3 СКМ (в 1,57 раза, $p<0,05$). На фоне вышеуказанных структурных изменений возрастает риск турбулентного тока крови, дезорганизации её форменных элементов [12], тромбообразования, расстройства гемодинамики на фоне активации эндотелиоцитов и ангиоспастических реакций, а также изменения роста, дифференцировки и миграции клеток эндотелия [13].

Нельзя исключать тот факт, что структурные нарушения эндотелия и мышечного слоя стенки сосудов проксимальных отделов ворсинчатого дерева инициируют: 1) повышение чувствительности рецепторов, их ответную реакцию на биологически активные вещества и вазоспастическую реакцию [14]; 2) ремоделирование стенки сосудов и соединительной ткани стволовых ворсин I и II порядка; 3) структурные изменения в мелких ворсинах в виде угнетения роста, пролиферации и миграции эндотелиоцитов, участвующих в формировании гематоплацентарного барьера. Триггерами вышеуказанных морфологических реакций являются: 1) возбудители инфекции [5]; 2) провоспалительные цитокины [3]; 3) прогрессирующая антенатальная гипоксия [15].

Таким образом, использование комплексного рентгенофлебографического-гистометрического анализа при ХСПН и ХДПН, обусловленных реактивацией моно- и микст-ЦМВИ во втором триместре гестации, позволяет установить основные причины повышения сосудистого сопротивления, блокирующего дозированное поступление контраста в кровеносные сосуды котиледонов краевой части плаценты.

Выводы

1. У женщин с ЦМВ-серонегативной физиологической беременностью на рентгенофлебограмме краевой части плаценты в котиледонах с четко визуализированными кровеносными сосудами встречаются единичные слепо заканчивающиеся вены и дугообразные сосуды. В вене стволовых ворсин I и II порядка определяется умеренно выраженная складчатость эндотелиальной выстилки, слабо выраженная отечная трансформация и частичная десквамация эндотелиоцитов. Редко встречается утолщение стенки артерий в результате их отека, фибринOIDной трансформации мышечной оболочки, выраженное полнокровие и агрегация эритроцитов, БВ, а также тромбы, ограничивающие поступление контрастной массы в кровеносное русло.

2. В плаценте у пациенток, перенесших реактивацию моно-ЦМВИ во втором триместре гестации и ХСПН, по сравнению с женщинами, не имеющими осложнений в период беременности, котиледоны с неконтрастированными кровеносными сосудами характеризуются более выраженной складчатостью эндотелиальной выстилки, отеком и частичной десквамацией эндотелиоцитов, полнокровием, единичными тромбами и частичной облитерацией артерий, фибринOIDными и воспалительными изменениями в стенке вен и артерий, ростом процентного содержания БВ и падением числа терминальных ворсин с СКМ.

3. Котиледоны с отсутствием контраста в кровеносном русле ворсин, расположенные в краевой части плаценты у женщин с обострением моно-ЦМВИ во втором триместре беременности и ХДПН, в отличие от таковых в плаценте у пациенток с реактивацией моно-ЦМВИ и ХСПН, имеют более выраженную деформа-

цию просвета вены стволовых ворсин I и II порядка, отек и частичное слущивание клеток эндотелия. Возрастают агрегация эритроцитов и тромбообразование, дилатация просвета вены, сужение и облитерация просвета артерий, фибринOIDное изменение стенки вен и артерий, количество БВ, ворсин с 2 СКМ при снижении числа ворсин с 1 СКМ. Ангиодеструктивные изменения крупных ворсин и нарушение васкуляризации конечных ворсин значительно повышают сопротивление току крови и вводимой контрастной массы через пуповинную вену в сосудистое русло котиледонов.

4. У женщин с реактивацией микст-ЦМВИ во втором триместре гестации и ХСПН, в сопоставлении с женщинами с неосложненной беременностью, при рентгенофлебографическом исследовании плаценты не определяются контуры котиледонов и их сосудов, а также различия числа дренирующих вен и сосудов с дугообразным ходом. Чаще выявляются слущенные эндотелиоциты, агрегаты эритроцитов, нейтрофилы, лимфоциты и тромбы, а также БВ, ворсины с 3 СКМ и реже обнаруживаются ворсины с СКМ. Структурная перестройка стенки крупных и мелких ворсин создает неблагоприятные условия для поддержания функционального состояния фетоплацентарного комплекса, а также морфологические препятствия для кровотока и контраста, нагнетаемого в их сосудистое русло.

5. При ХДПН, обусловленной реактивацией микст-ЦМВИ во втором триместре гестации, в сопоставлении с ХСПН у женщин с обострением моно-ЦМВИ, в котиледонах с неконтрастированными кровеносными сосудами чаще встречаются слепо заканчивающиеся и дугообразные сосуды. В вене стволовых ворсин I и II порядка возрастает частота обнаружения фестончатого просвета, тромбов, гиперхромии ядра эндотелия и его тотальной десквамации, нейтрофилов и лимфоцитов, фибринOIDной деградации, воспаления и кальцификации её мышечной оболочки, а также частичной и полной облитерации просвета артерий, БВ и ворсин с 1 СКМ. Реже встречаются терминальные ворсины с СКМ, а также с 2 и 3 СКМ. Более выраженное угнетение формирования гематоплацентарного барьера на фоне повреждения стенки кровеносных сосудов проксимально расположенных участков ворсинчатого хориона блокирует поступление контрастной массы в кровеносные сосуды котиледонов краевой части плаценты.

Конфликт интересов

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Айламазян Э.К., Полякова В.О., Кветной И.М. Функциональная морфология плаценты человека в норме и при патологии (нейроиммуноэндокринологические аспекты). СПб.: Изд-во Н-Л., 2012. 176 с. ISBN: 978-5-94869-150-3
2. Ишутина Н.А., Луценко М.Т., Дорофиенко Н.Н. Роль пальмитиновой кислоты в реализации апоптоза при цитомегаловирусной инфекции в период беременности // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2017. Т.148, №1. С.11–14. EDN: ZBKLBL
3. Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V., Ishutina N.A., Gorikov I.N., Dorofienko N.N., Petrova K.K., Prikhodko N.G. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 is a potential marker of inflammation in the trophoblast associated with cytomegalovirus infection // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2019. 99:A6173. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1_MeetingAbstracts.A6173
4. Луценко М.Т., Андриевская И.А. Состояние фетоплацентарного барьера при герпес-вирусной инфекции у беременных // Бюллетень СО РАМН (Сибирский научный медицинский журнал). 2008. Т.28, №5. С.142–147. EDN: JVTCYT
5. Гориков И.Н., Андриевская И.А., Ишутина Н.А., Довжикова И.В. Архитектоника вен плодной части плаценты при цитомегаловирусной инфекции во II триместре беременности // Архив патологии. 2019. Т.81, №4. С.43–47. EDN: XCKKMZ. <https://doi.org/10.17116/patol20198104143>
6. Луценко М.Т., Андриевская И.А. Морфометрические исследования фетоплацентарного барьера ворсинок плаценты при герпесной и цитомегаловирусной инфекциях // Бюллетень СО РАМН (Сибирский научный медицинский журнал). 2010. Т.30, №3. С.137–140. EDN: MSSFYH.
7. Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. Перинатальные инфекции. Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений: практическое руководство. СПб.: Элби СПб., 2002. 352 с.
8. Беков Д.Б., Нехворский А.И., Садовников Г.П., Сиротенко Г.З. Устройство для инъекции сосудов анатомических препаратов. Авторское свидетельство СССР на изобретение №253300/30.09.1969. Бюл.34. URL: <https://patients.su/2-253300-ustrojstvo-dlya-inekciii-sosudov-anatomicheskikh-preparatov.html>
9. Стрижаков А.Н., Волощук И.Н., Тимохина Е.В., Козлова У.А. Морффункциональные изменения в плаценте при плацентарной недостаточности различной степени тяжести // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2010. Т.9, №2. С.5–11. EDN: MUXGML.
10. Милованов А.П. Патология системы материнства-плацента-плод: руководство для врачей. М.: Медицина; 1999. 448 с.
11. Гуляев Н.И. Дисфункция эндотелия у больных с дегенеративным стенозом клапана аорты: современное состояние проблемы // Клиническая медицина. 2015. Т.93, №5. С.37–42. EDN: TWMLNR.
12. Войнов В.А. Патофизиология сердца и сосудов. Учебное пособие. М.: БИНОМ, 2017. 208 с. ISBN: 978-5-9518-0690-1
13. Рудюк Л.А., Решетникова О.С. Факторы ангиогенеза в плаценте беременных с врожденными пороками сердца // Архив патологии. 2019. Т.81, №4. С.33–38. EDN: AVERLH. <https://doi.org/10.17116/patol20198104133>
14. Wareing M., Greenwood S.L., Fyfe G.K., Baker P.N. Reactivity of human placental chronic plate vessels from pregnancies complicated by intrauterine growth restriction (IUGR) // Biol. Reprod. 2006. Vol.75, Iss.4. P.518–523. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.106.051607>
15. Сельков С.А., Павлов О.В., Соколов Д.И. Механизмы иммунорегуляции развития плаценты // Журнал акушерства и женских болезней. 2011. Т.60, Вып.3. С.136–140. EDN: OFSQWJ.

REFERENCES

1. Aylamazyan E.K., Polyakova V.O., Kvetnoy I.M. [Functional morphology of the human placenta in health and disease (neuroimmunoendocrine aspects)]. SPb.: NL; 2012 (in Russian). ISBN: 978-5-94869-150-3
2. Ishutina N.A., Lutsenko M.T., Dorofienko N.N. [The role of palmitic acid in implementation of apoptosis in cytomegalovirus infection in the gestation period]. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)* 2017; 148(1):11–14 (in Russian).
3. Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V., Ishutina N.A., Gorikov I.N., Dorofienko N.N., Petrova K.K., Prikhodko N.G. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 is a potential marker of inflammation in the trophoblast associated with cytomegalovirus infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019; 99:A6173. https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1_MeetingAbstracts.A6173
4. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A. [The state of fetoplacental barrier at herpes viral infection in pregnant women]. *Siberian Scientific Medical Journal* 2008; (5):142–147 (in Russian).
5. Gorikov I.N., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A., Dovzhikova I.V. [The architectonics of fetal placental veins in second trimester cytomegalovirus infection]. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii* 2019; 81(4):43–47 (in Russian). <https://doi.org/10.17116/patol20198104143>
6. Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A. [Morphometric researches fetoplacental of the barrier of villus of the placenta at

- herpes and cytomegalovirus infections]. *Siberian Scientific Medical Journal* 2010; (3):137–140 (in Russian).
7. Tsinzerling V.A., Mel'nikova V.F. [Perinatal infections. Pathogenesis, morphological diagnostics and clinical-morphological comparisons: practical manual]. St. Petersburg: Elbi SPb; 2002 (in Russian).
8. Bekov D.B., Nekhvorskiy A.I., Sadovnikov G.P., Sirotenko G.Z. [Device for injection into the vessels of anatomical preparations]. USSR author's certificate for the invention No.253300/09/30/1969. Bull.34 (in Russian). Available at: <https://patents.su/2-253300-ustrojjstvo-dlya-inekcii-sosudov-anatomiceskikh-preparatov.html>.
9. Strizhakov A.N., Voloshchuk I.N., Timokhina E.V., Kozlova U.A. [Morphofunctional changes in the placenta with placental insufficiency of varying severity]. *Voprosy ginekologii, akushерства и перинатологии* 2010; 9(2):5–11 (in Russian).
10. Milovanov A.P. [Pathology of the mother-placenta-fetus system]. Moscow: Meditsina; 1999 (in Russian). ISBN: 978-5-225-02775-9
11. Gulyaev N.I. [Endothelial dysfunction in patients with degenerative aortic valve stenosis: the state-of-the-art]. *Klin. Med. (Mosk)* 2015; 93(5):37–42 (in Russian). PMID: 26410958.
12. Voynov V.A. [Pathophysiology of the heart and blood vessels]. Moscow: BINOM; 2017 (in Russian). ISBN: 978-5-9518-0690-1
13. Rudyuk L.A., Reshetnikova O.S. [Angiogenesis-related factors in the placenta of pregnant women with congenital heart diseases] (in Russian only). *Arkhiv Patologii* 2019; 81(4):33–38 (in Russian). <https://doi.org/10.17116/patol20198104133>
14. Wareing M., Greenwood S.L., Fyfe G.K., Baker P.N. Reactivity of human placental chronic plate vessels from pregnancies complicated by intrauterine growth restriction (IUGR). *Biol. Reprod.* 2006; 75(4):518–523. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.106.051607>
15. Selkov S.A., Pavlov O.V., Sokolov D.I. [Mechanisms of immunoregulation in placenta development]. *Journal of Obstetrics and Womans Diseases* 2011; 60(3):136–140 (in Russian).

Информация об авторе:

Игорь Николаевич Гориков, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания; e-mail: dcfpd@dcfpd.ru

Author information:

Igor' N. Gorikov, MD, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dcfpd.ru

Поступила 26.09.2022
Принята к печати 17.10.2022

Received September 26, 2022
Accepted October 17, 2022

УДК 582.35:577.115.3+615.322

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-91-101

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТОВ ГЛИЦЕРОЛИПИДОВ ИЗ ПАПОРОТНИКА И ХВОЩА НА МОНОНУКЛЕАРНЫЕ КЛЕТКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ EX VIVO

Э.В.Некрасов¹, Д.Е.Наумов²

¹Амурский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического сада-института Дальневосточного отделения Российской академии наук, 675000, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе, 2-й км

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ. Введение. Мононуклеарные клетки периферической крови (МНКП) человека составляют пул иммунных клеток и могут служить моделью для исследования иммунных заболеваний. Цель. Тестирование биологической активности препаратов глицеролипидов из папоротника и хвощей, содержащих в своем составе длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты (ДЦПНЖК), в отношении МНКП без дополнительной стимуляции и после стимуляции форбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА) и иономицином. Материалы и методы. Препараты глицеролипидов получали фракционированием общих липидов молодых вай папоротника *Matteuccia struthiopteris* и побегов хвоща *Equisetum arvense* на силикагеле. Для сравнения использовали фосфатидилхолин из яичного желтка. Состав жирных кислот препаратов анализировали методом газовой хроматографии. Мононуклеарные клетки выделяли из крови больных бронхиальной астмой. Параметры жизнеспособности и активации клеток оценивали методом проточной цитометрии. Результаты. Препараты глицеролипидов из папоротника и хвоща, в отличие от яичного фосфатидилхолина, проявляли цитотоксическое действие. Наибольший эффект имела фракция липидов из папоротника, элюированная метанолом, которая снижала жизнеспособность клеток на 64,6 (51,1–79,0)% в концентрации 2 мкг/мл и вызывала полную гибель клеток при 20 мкг/мл. При стимуляции клеток ФМА/иономицином цитотоксический эффект препарата усиливался, однако доля МНКП, экспрессирующих маркер CD69, не изменялась. Цитотоксическое действие других препаратов липидов наблюдали при более высоких концентрациях (20 и/или 80 мкг/мл), а эффект был слабее: жизнеспособность снижалась на 7,1 (6,7–9,4)% для липидов папоротника, элюированных смесью хлороформ – метанол – вода (3:5:2), на 39,8 (26,4–41,6)% и 12,0 (10,0–15,5)% для фракций липидов хвоща, элюированных метанолом и смесью хлороформ–метанол–вода, соответственно, при концентрации препаратов 80 мкг/мл. Заключение. Сравнение состава жирных кислот препаратов не подтвердило вклада ДЦПНЖК в наблюдаемые эффекты. Идентификация активного компонента позволит вести разработку лекарственного препарата при гипериммунном ответе или в модельных экспериментах.

Ключевые слова: мононуклеары периферической крови, липиды, папоротник, хвощ, биологическая активность.

EFFECT OF GLYCEROLIPID PREPARATIONS FROM FERN AND HORSETAIL ON HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS UNDER EX VIVO CONDITIONS

E.V.Nekrasov¹, D.E.Naumov²

¹Amur Branch of Botanical Garden-Institute of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, 2nd km Ignatyevskoe Rd., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

Контактная информация

Эдуард Витальевич Некрасов, канд. бiol. наук, старший научный сотрудник, Амурский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, 675000, Россия, г. Благовещенск, Игнатьевское шоссе, 2-й км. E-mail: ed_nekrasov@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Eduard V. Nekrasov, PhD (Biol.), Senior Staff Scientist, Amur Branch of Botanical Garden-Institute of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, 2 km Ignatyevskoe Rd., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: ed_nekrasov@mail.ru

Для цитирования:

Некрасов Э.В., Наумов Д.Е. Действие препаратов глицеролипидов из папоротника и хвоща на мононуклеарные клетки периферической крови человека в условиях ex vivo // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.91–101. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-91-101

For citation:

Nekrasov E.V., Naumov D.E. Effect of glycerolipid preparations from fern and horsetail on human peripheral blood mononuclear cells under ex vivo conditions. *Bületeren' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (86):91–101 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-91-101

²Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000,
Russian Federation

SUMMARY. **Introduction.** Human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) are a pool of immune cells and they are also a convenient model system for studying immune pathologies. **Aim.** Testing for bioactivity of glycerolipid preparations from fern and horsetail species containing long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFAs) towards PBMCs without exogenous stimulation and after phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) plus ionomycin stimulation. **Materials and methods.** Glycerolipid preparations were produced by fractionation of total lipids, isolated from young fronds of the fern *Matteuccia struthiopteris* and shoots of the horsetail *Equisetum arvense*, on silica. Egg phosphatidylcholine was used for comparison. Fatty acids were analyzed by gas chromatography. Mononuclear cells were isolated from blood of patients with asthma. Parameters of cell viability and activation were estimated by flow cytometry. **Results.** The glycerolipid preparations from the fern and horsetail were found to have a cytotoxic effect while egg phosphatidylcholine was not. The most active was the fraction of fern lipids eluted with methanol which reduced cell viability by 64.6 (51.1–79.0)% in the concentration 2 µg/ml and caused complete cell death in 20 µg/ml. After cell stimulation with PMA/ionomycin, the cytotoxic effect of the preparation increased although the level of PBMCs expressing the marker CD69 did not change. The cytotoxic effect of other glycerolipid preparations was observed in the higher concentrations (20 and/or 80 µg/ml) and it was less pronounced: the cell viability reduced by 7.1 (6.7–9.4)% for the fraction of fern lipids eluted by the mixture chloroform – methanol – water (3:5:2), by 39.8 (26.4–41.6)% and 12.0 (10.0–15.5)% for the fractions of the horsetail lipids eluted with methanol and the chloroform–methanol–water mixture, respectively, in the concentration 80 µg/ml. **Conclusion.** Comparison of fatty acid composition of the glycerolipid preparations did not confirm a contribution of LCPUFAs to the observed effects. Identification of an active component may allow development of a drug for the local application in a hyperimmune response or for model experiments.

Key words: peripheral blood mononuclear cells, lipids, fern, horsetail, biological activity.

Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) человека представляют собой гетерогенный набор нескольких классов иммунных клеток, включающих Т-клетки, В-клетки, моноциты, дендритные клетки и естественные киллеры (NK-клетки). Эти клетки подвержены активации, пролиферации и дифференциации в ответ на различные стимулы и являются движущей силой иммунных ответов. В этой связи МКПК широко используются как модельная система для исследования метаболических и аутоиммунных заболеваний, в том числе бронхиальной астмы (БА) [1]. МКПК больных БА реагируют на воздействие аллергенов и других триггеров иммунного ответа, запуская каскад цитокинов, отличающийся по многим параметрам от реакции здоровых людей [2,3].

Липиды являются структурными компонентами всех клеточных мембран, а также выполняют сигнальную функцию. Так, в ходе воспалительной реакции запускается процесс перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), приводящий к образованию как провоспалительных, так и противовоспалительных сигнальных медиаторов-оксилипинов: простагландинов, лейкотриенов, тромбоксанов, липоксанов, резолвинов и других [4, 5]. Основными предшественниками оксилипинов у человека и животных являются арахидоновая (20:4n-6, АК) и эйказапентаеновая (20:5n-3, ЭПК) жирные кислоты, продукты окисления которых обобщенно называют эйказаноидами, а также докозагексаеновая кислота (22:6n-3, ДГК), чьи производные, соответственно, называют докозаноидами. Иммунные клетки участвуют как в синтезе определенных оксилипинов в ответ на внешние стимулы [6], так и воспринимают эти соединения благодаря экспрессии на поверхности соответствующих рецепторов [7].

Папоротники характеризуются уникальным набором ПНЖК, которые, в отличие пищевых масел растительного происхождения, включают АК и ЭПК [8–10]. При этом основная часть этих жирных кислот связана с фракцией фосфолипидов [9]. У хвои, напротив, отсутствуют АК и ЭПК, однако присутствуют так называемые Δ5-ненасыщенные полиметилен-разделенные жирные кислоты: сциадоновая (5,11,14-20:3, СЦК) и юнипероновая (5,11,14,17-20:4, ЮПК) кислоты [11], которые отличаются от АК и ЭПК отсутствием двойной связи в положении С8. Влияние экзогенных липидов на физиологическое состояние МКПК исследовали в основном с точки зрения диетологии и связанных с диетой метаболических расстройств [12–15]. Целью нашего исследования была сравнительная оценка биологической активности препаратов глицеролипидов из папоротника и хвои как носителей ПНЖК различающегося состава. Исходной гипотезой было предположение, что липиды папоротников, несущие АК и ЭПК, будут усиливать реакцию МКПК в ответ на стимуляцию фторбол-12-миристат-13-ацетатом (ФМА) и иономицином, тогда как липиды из хвои, не содержащие этих жирных кислот, будут действовать на МКПК отличающимся образом. В работе использовали МКПК больных БА, для которых нарушения в работе эйказаноидной системы связаны с патогенезом заболевания [5], поэтому препараты, нормализующие состояние этой системы, имеют перспективы терапевтического применения.

Материалы и методы исследования

Молодые растущие вайи папоротника *Matteuccia struthiopteris* (L.) Tod. собирали с растений, растущих

в открытом грунте (Коллекция генетических ресурсов растений Амурского филиала Ботанического сада-института ДВО РАН), в мае 2017 года Побеги *Equisetum arvense* L. собирали в мае 2017 года в г. Благовещенске Амурской области. Свежесобранный растительный материал кипятили в воде 3 минуты для инактивации ферментов. Общие липиды экстрагировали смесью хлороформ – метанол как описано в работе [8]. Для получения препаратов глицеролипидов липиды фракционировали методом колоночной хроматографии на силикагеле (ДюраСил Н, 100-140 мкм, 2 г на колонку диаметром 1 см). Колонку предварительно промывали 30 мл хлороформа. Липиды (около 34 мг) наносили на колонку в виде раствора в хлороформе. Липиды элюировали растворителями в последовательности: 1) хлороформ – 30 мл; 2) хлороформ – ацетон (3:1, по объему) – 20 мл; 3) ацетон – 20 мл; 4) ацетон – метанол (9:1) – 20 мл; 5) метанол – 20 мл; 6) хлороформ – метанол – вода (3:5:2) – 20 мл. Фракции 1 и 2 объединяли вместе. Полученные фракции упаривали на роторном испарителе и растворяли в 1,5 мл смеси хлороформ – метанол (2:1). Состав глицеролипидов во фракциях оценивали методом тонкослойной хроматографии (пластинки 10×10 см, ПТСХ-П-В-УФ, Sorbfil, Россия, предварительно активированные при 105°C) как описано в работе [16]. Яичный фосфатидилхолин (ФХ) получали из желтка куриных яиц методом колоночной хроматографии на окиси алюминия. Жирные кислоты анализировали в виде метиловых эфиров методом газожидкостной хроматографии и газовой хроматографии – масс-спектрометрии в виде метиловых эфиров и 4,4-диметилоксазолиновых производных как описано в работе [10].

Донорами крови были больные персистирующей БА (n=5). Все обследованные имели смешанную форму, среднюю тяжесть и неконтролируемое течение заболевания. Средний возраст пациентов составил 43,2±5,32 лет, 4 из 5 обследованных являлись лицами женского пола. 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».

МКПК выделяли по стандартному протоколу [17]. Для этого, цельную венозную кровь, набранную в пробирки с антикоагулянтом (K₂EDTA), в объеме 18 мл переносили в пробирку объемом 50 мл и добавляли равный объем фосфатно-солевого буфера, аккуратно

перемешивая. После этого разведенную кровь в полном объеме насылали поверх 6 мл раствора Фиколла (Биолот, Россия) с плотностью 1,077 г/мл и центрифугировали 40 мин при 400g и температуре 20°C. После центрифугирования отбирали большую часть плазмы, а затем, через оставшийся слой плазмы собирали МКПК пипеткой и переносили в новую стерильную пробирку. Выделенные клетки дважды промывали трехкратным объемом фосфатно-солевого буфера и осаждали центрифугированием при 200g 10 мин. После отмычки клеточный осадок ресусцинировали в 1 мл среды RPMI-1640 и определяли концентрацию и жизнеспособность клеток на автоматическом счетчике Luna-II (Logos Biosystems, Республика Корея) согласно инструкции производителя. Концентрацию жизнеспособных клеток доводили до 3×10^6 клеток/мл средой RPMI-1640, нагретой до 37°C. Культивирование МКПК проводили в 96-луночных планшетах с U-образным дном лунок, внося в каждую лунку $0,2 \times 10^6$ клеток в 100 мкл среды RPMI-1640, содержащей 10% делипидированной эмбриональной бычьей сыворотки (Biowest, Франция), при 37°C в атмосфере с 5% CO₂.

Препараты глицеролипидов упаривали досуха и суспендировали в культуральной среде RPMI-1640 до концентрации 2 мг/мл. Для этого инкубировали липиды в течение 1 ч, встряхивали на вортексе, а затем нагревали до 40°C и обрабатывали в ультразвуковой ванне Elmasonic S10H (Elma Schmidbauer GmbH, Германия) в течение 5 мин.

Анализ влияния препаратов глицеролипидов на жизнеспособность и активацию МКПК проводили, используя следующие концентрации для каждого препарата: 0, 0,2, 2, 20 и 80 мкг/мл. Эффект каждой концентрации анализировали в двойных повторах. Клетки выдерживали в среде RPMI-1640, содержащей 10% делипидированной сыворотки и исследуемый препарат в одной из концентраций, в течение 24 ч, после чего в лунки, предназначенные для оценки влияния липида на активацию МКПК, вносили ФМА и иономицин в концентрациях 10 нг/мл и 1 мкг/мл, соответственно, и инкубировали еще 16 ч. Клетки переносили из лунок в полистироловые пробирки объемом 5 мл. Прикрепившиеся к пластику клетки (преимущественно моноциты) дополнительно диссоциировали буфером, содержащим 0,1% коллагеназы (Биолот, Россия), 0,01% Na₂EDTA и 0,25% бычьего сывороточного альбумина, при 37°C в течение 5 мин. Полученные образцы клеток однократно отмывали 2 мл фосфатно-солевого буфера и окрашивали для анализа на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (BD, США). Для определения жизнеспособности клеток использовали флуоресцентный интеркалирующий краситель – йодид пропидия в концентрации 2,5 мкг/мл. Экспрессию маркера пролиферации и активации лимфоцитов белка CD69 определяли путем окрашивания клеток антителами mouse anti-human CD69, коньюгированными с аллофикацианином и соответствующими

изотипическими антителами (BD Biosciences, США) согласно рекомендациям производителя. Клетки выдерживали в присутствии йодида пропидия и антител при комнатной температуре без доступа света в течение 30 мин, после чего однократно отмывали холодным фосфатно-солевым буфером, содержащим 0,1% бычьего сывороточного альбумина, и ресуспендировали в 200 мкл этого же буфера. Для анализа на цитофлуориметре считывали 10000 событий. Популяцию МКПК определяли на графике прямого и бокового светорассеяния (FCS-A/SSC-A). Кластеры клеток отсекали на графике FSC-H/FCS-A, после чего среди одиночных клеток определяли процент жизнеспособных, используя канал PerCP-Сy5.5. Среди жизнеспособных клеток на графике FITC/SSC-A определяли процент клеток, экспрессирующих CD69, путем сравнения с изотипическим контролем.

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Все данные представлены в формате Me (Q1; Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью критерия U Манна-Уитни. В качестве критического уровня значимости принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Препараты, полученные фракционированием липидов папоротника *Matteuccia struthiopteris* (ЛП) и хвоща *Equisetum arvense* (ЛХ), не отличались по составу глицеролипидов при сравнении аналогичных фракций (табл. 1). Фракции, элюированные метанолом (далее препараты ЛП-М и ЛХ-М для папоротника и хвоща, соответственно), представляли смесь глицеролипидов, которые включали фосфолипиды – фосфатидилглицерин (ФГ), фосфатидилинозит (ФИ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ), следы фосфатидилсерина (ФС), гликолипиды (дигалактозидацилглицерин (ДГДГ) и сульфохиновозилдацилглицерин (СХДГ)), а также бетаиновый глицеролипид – диацилглицеро-N,N,N-триметилгомосерин (ДГТС). Фракции, элюированные смесью хлороформ – метанол – вода (далее препараты ЛП-ХМВ и ЛХ-ХМВ) содержали фосфатидилхолин (ФХ), меньшую часть ДГТС, следы ФЭ и ФС.

Состав жирных кислот препаратов показан в таблице 1. Содержание длинноцепочечных ПНЖК (АК, ЭПК, 20:3n-6, СЦК, ЮПК, 20:2n-6, 20:3n-3) в препаратах из папоротника было очень близким. Различия между препаратами ЛП-М и ЛП-ХМВ были в концентрациях 3t-16:1, 18:1n-9, 18:2n-6 и 18:3n-6. СЦК и ЮПК составляли очень малую часть от суммы жирных кислот. Препараты из хвоща отличались от препаратов из папоротника очень высоким содержанием 18:3n-3, и

более низким 18:1n-9, в них на порядок было выше содержание ЮПК и СЦК, полностью отсутствовали АК и ЭПК. Между собой препараты из хвоща отличались мало за исключением кислот 3t-16:1, 18:1n-9, СЦК, ЮПК, 20:3n-3, 24:1 (табл. 1).

Для сравнения в биоиспытаниях использовали яичный ФХ. Этот глицерофосфолипид имел высокие уровни 18:0 и 18:1n-9, и отличался присутствием ПНЖК с 22 углеродными атомами как семейства омега-3, так и омега-6, в том числе ДГК (22:6n-3), которые, тем не менее, были минорными жирными кислотами. В яичном ФХ отсутствовали ЮПК и характерные для растений 3t-16:1 и 16:3n-3, также было крайне низкое содержание 18:3n-3 – эссенциальной жирной кислоты, присущей растениям (табл. 1).

Медианная жизнеспособность МКПК после инкубации в течение 40 часов составляла 95,0% (94,3; 95,1, здесь и далее показаны нижний и верхний квартили). Стимуляция ФМА и иономицином в отсутствие тестируемых препаратов глицеролипидов сопровождалась некоторым снижением доли жизнеспособных клеток (до 86,8% (72,2; 87,2), табл. 2), которое, однако, не было статистически значимым ($p=0,13$). Базовая активация МКПК, которую оценивали по экспрессии CD69, составляла 2,5% (1,4; 4,0, табл. 3). Низкий уровень экспрессии CD69 в отсутствие дополнительной стимуляции сообщали для эозинофилов из периферической крови больных БА [18]. Стимуляция клеток ФМА/иономицином приводила к существенному увеличению доли активированных мононуклеаров (40,3% (32,4; 47,2), $p=0,04$, табл. 3).

Препараты глицеролипидов существенно различались по воздействию на МКПК, которое имело цитотоксический характер. Наиболее сильный цитотоксический эффект оказывала фракция липидов из папоротника *M. struthiopteris*, элюированная метанолом (ЛП-М). Этот препарат вызывал значимое снижение жизнеспособности клеток, начиная с концентрации 2 мкг/мл, а концентрации 20 и 80 мкг/мл вызывали полную гибель клеток (табл. 2). Значение концентрации полумаксимального ингибиования (IC_{50}) для ЛП-М составило 1,46 мкг/мл. В условиях стимуляции ФМА/иономицином концентрация, при которой происходило значимое снижение числа жизнеспособных клеток, оставалась прежней (2 мкг/мл), однако значение IC_{50} снижалось до 0,41 мкг/мл. Аналогичный препарат из хвоща *E. arvense* (ЛХ-М), также полученный элюированием метанолом, существенно снижал жизнеспособность МКПК только при концентрации 80 мкг/мл (табл. 2), тогда как при стимулировании ФМА и иономицином цитотоксическое действие было статистически значимым уже при концентрации 20 мкг/мл (табл. 2).

Таблица 1

Состав препаратов глицеролипидов, использованных в биоиспытаниях на МКПК

Препарат	<i>Matteuccia struthiopteris</i>		<i>Equisetum arvense</i>		яичный ФХ
	ЛП-М	ЛП-ХМВ	ЛХ-М	ЛХ-ХМВ	
Состав глицеролипидов	СХДГ, ФЭ, ФГ, ФИ, ДГДГ, ДГТС	ФХ, ДГТС, ФС, ФЭ	СХДГ, ФЭ, ФГ, ФИ, ДГДГ, ДГТС	ФХ, ДГТС, ФС, ФЭ	ФХ
Жирные кислоты, % от суммы					
16:0	28,8	23,2	25,6	25,2	31,2
16:1n-9	0,4	0,9	0,2	0,2	0,2
16:1n-7	0,2	0,4	0,3	0,3	1,1
3t-16:1	5,1	0,2	2,0	0,1	0
16:3n-3	0,4	0,2	0,6	0,3	0
18:0	0,8	2,2	1,1	3,5	16,6
18:1n-9	15,6	7,1	5,6	2,1	27,9
18:1n-7	0,3	0,3	1,0	1,3	1,2
18:2n-6	15,1	31,9	11,0	14,5	14,6
18:3n-6	1,9	4,1	0	0	0,1
18:3n-3	9,6	7,1	40,8	46,2	0,1
20:1n-9	0,3	0,2	0,6	0,9	0,1
20:2n-6	0,2	0,1	0,5	0,2	0,2
СЦК	0,1	0,1	1,7	0,7	0,2
20:3n-6	2,5	2,2	0	0	0,3
АК	9,3	10,4	0	0	3,3
20:3n-3	0,1	0,1	1,0	0,3	сл.
ЮПК	0,3	0,2	4,8	2,3	0
ЭПК	5,2	5,5	0	0	сл.
22:0	0,9	0,8	0,7	0,5	сл.
22:4n-6	0	0	0	0	0,2
22:5n-6	0	0	0	0	0,5
22:5n-3	0	0	0	0	0,1
22:6n-3	0	0	0	0	1,6
24:0	1,5	1,4	1,0	0,6	0
24:1	0,2	сл.	1,4	0,3	0
Другие ¹	1,15	1,3	0,5	0,3	0,75

Примечание. ¹Другие жирные кислоты включают 14:0, 15:0, 16:1n-5, 16:2n-6, 17:0, 18:1n-5, 18:4n-3, 19:0, 20:0, 20:4n-3, чье содержание не превышало 0,2% от суммы жирных кислот. Сокращения здесь и далее: АК – арахидоновая кислота (20:4n-6); ДГДГ – дигалактозидиацилглицерин; ДГТС – диацилглицеро-N,N,N-триметилгомосерин; ЛП-М – липиды папоротника, элюированные метанолом; ЛП-ХМВ – липиды папоротника, элюированные смесью хлороформ – метанол – вода (3:5:2); ЛХ-М – липиды хвоща, элюированные метанолом; ЛХ-ХМВ – липиды хвоща, элюированные смесью хлороформ – метанол – вода (3:5:2); СЦК – сциадоновая кислота (5,11,14-20:3); СХДГ – сульфохиновозилдиацилглицерин; ФГ – фосфатидилглицерин; ФИ – фосфатидилинозит; ФС – фосфатидилсерин; ФХ – фосфатидилхолин; ФЭ – фосфатидилэтаноламин; ЭПК – эйкозапентаеновая кислота (20:5n-3); ЮПК – юнипероновая кислота (5,11,14,17-20:4).

Таблица 2

**Влияние препаратов глицеролипидов на жизнеспособность МКПК (%) без стимуляции (-) и после
стимуляции (+) ФМА и иономицином**

Препарат	Стимуляция	Концентрация препарата, мкг/мл				
		0,0	0,2	2,0	20,0	80,0
ЛП-М	-	95,0 (94,3–95,1) <i>p</i> =0,40	93,0 (88,8–93,2) <i>p</i> =0,01	33,4 (19,9–47,1) <i>p</i> =0,01	0,6 (0,0–1,4) <i>p</i> =0,01	0,0 (0,0–0,0) <i>p</i> =0,008
	+	86,8 (72,2–87,2) <i>p</i> =0,29	69,2 (47,9–87,1) <i>p</i> =0,01	4,1 (0,2–4,7) <i>p</i> =0,01	0,0 (0,0–0,0) <i>p</i> =0,01	0,0 (0,0–0,0) <i>p</i> =0,008
ЛП-ХМВ	-	95,0 (94,3–95,1) <i>p</i> =0,60	95,3 (94,3–95,5) <i>p</i> =0,67	95,6 (94,1–96,2) <i>p</i> =0,29	92,7 (92,5–94,3) <i>p</i> =0,15	88,0 (86,0–88,4) <i>p</i> =0,15
	+	86,8 (72,2–87,2) <i>p</i> =0,83	80,2 (54,3–89,9) <i>p</i> =0,60	71,6 (62,1–88,1) <i>p</i> =0,60	66,2 (59,8–84,4) <i>p</i> =0,21	61,4 (45,8–62,7) <i>p</i> =0,008
ЛХ-М	-	95,0 (94,3–95,1) <i>p</i> =0,75	94,2 (92,2–95,1) <i>p</i> =0,53	96,0 (90,8–96,5) <i>p</i> =0,53	88,2 (86,6–90,2) <i>p</i> =0,14	58,0 (55,1–69,9) <i>p</i> =0,008
	+	86,8 (72,2–87,2) <i>p</i> =0,68	80,4 (87,3–85,0) <i>p</i> =0,68	73,6 (64,2–78,5) <i>p</i> =0,21	64,5 (54,2–69,6) <i>p</i> =0,04	50,1 (48,5–53,2) <i>p</i> =0,008
ЛХ-ХМВ	-	95,0 (94,3–95,1) <i>p</i> =0,53	95,9 (93,5–96,5) <i>p</i> =0,40	95,9 (94,7–96,8) <i>p</i> =0,40	93,3 (91,0–93,6) <i>p</i> =0,40	83,6 (79,7–85,6) <i>p</i> =0,06
	+	86,8 (72,2–87,2) <i>p</i> =0,09	69,1 (65,0–82,3) <i>p</i> =0,99	75,2 (74,5–78,3) <i>p</i> =0,99	76,2 (69,4–86,7) <i>p</i> =0,40	45,6 (44,1–46,6) <i>p</i> =0,03
ФХ	-	95,0 (94,3–95,1) <i>p</i> =0,83	94,3 (94,1–96,1) <i>p</i> =0,83	95,8 (93,0–97,0) <i>p</i> =0,53	96,2 (94,4–96,2) <i>p</i> =0,53	95,5 (94,9–95,9) <i>p</i> =0,69
	+	86,8 (72,2–87,2) <i>p</i> =0,68	82,4 (75,2–88,7) <i>p</i> =0,68	78,9 (74,8–84,2) <i>p</i> =0,68	84,6 (81,1–90,9) <i>p</i> =0,99	82,9 (80,7–91,3) <i>p</i> =0,99

Примечание. Показаны медианные значения и межквартильный интервал (в скобках); критерий уровня значимости (*p*) показывает различия между исходным уровнем в отсутствие препарата (0,0) и в его присутствии.

Препараторы глицеролипидов, полученные из папоротника и хвоща элюированием смесью хлороформ – метанол – вода (3:5:2) (ЛП-ХМВ и ЛХ-ХМВ, соответственно), снижали жизнеспособность МКПК в слабой степени и только при высокой концентрации (80 мкг/мл) и это снижение не было значимым (*p*=0,15 для папоротника и *p*=0,06 для хвоща, табл. 2). После стимуляции клеток ФМА и иономицином статистически значимое снижение жизнеспособности также наблюдали при концентрации 80 мкг/мл (табл. 2). Яичный ФХ не оказывал существенного влияния на жизнеспособность клеток ни в одной из проанализированных концентраций, как в базовых условиях, так и при проведении стимуляции ФМА и иономицином (табл. 2).

Компонент, ответственный за цитотоксический эф-

фект препаратов глицеролипидов в отношении МКПК, еще предстоит идентифицировать. Препарат ЛП-М, проявляющий наибольшую токсичность, представляет собой смесь компонентов, отличающихся как по структуре полярной части, так и остаткам жирных кислот. Например, в этом препарате, в отличие от ЛП-ХМВ, присутствует СХДГ. Известно, что СХДГ индуцирует апоптоз и некроз клеток рака желудка человека [20], СХДГ различного происхождения, в том числе из папоротника, ингибирует ДНК-полимеразы α и β [21, 22]. С другой стороны, СХДГ присутствует в аналогичном препарате из хвоща (ЛХ-М), однако цитотоксичность этого препарата существенно ниже. Можно предположить, что причина в разном эффекте препаратов из папоротника и хвоща заключается в составе жирных

кислот, как следует из таблицы 1. Между тем, препараты из одного источника (папоротника или хвоша) близки по составу жирных кислот, в том числе длинноцепочечных ПНЖК (АК, ЭПК, 20:3n-6), чье присутствие у папоротников и отсутствие у хвоши было положено в основу гипотезы, проверяемой в этом исследовании. Существенные различия в цитотоксичности препаратов ЛП-М и ЛП-ХМВ из папоротника не подтверждают цитотоксического эффекта этих длинноцепочечных ПНЖК. С другой стороны, обращает на себя внимание наличие в препаратах ЛП-М и ЛХ-М транс-3-гексадециновой кислоты (3t-16:1) в заметных

количествах (табл. 1), которой больше в препарате ЛП-М с более токсичным эффектом. Дифференциальное действие различных жирных кислот на экспрессию провоспалительных и противовоспалительных генов МКПК человека было показано ранее [12, 15]. Более того, действие жирных кислот зависело от статуса (нормальный или избыточный вес) доноров МКПК [12], а вариации состава жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов МКПК, коррелировали с некоторыми различиями иммунных функций этих клеток [19].

Таблица 3
Влияние препаратов глицеролипидов на активацию МКПК (доля клеток, экспрессирующих CD69, %)
без стимуляции (-) и после стимуляции (+) ФМА и иономицином

Препарат	Стимуляция	Концентрация препарата, мкг/мл				
		0,0	0,2	2,0	20,0	80,0
ЛП-М	-	2,5 (1,4–4,0)	1,1 (0,9–1,7) p=0,30	1,5 (0,8–1,5) p=0,30	0,0 (0,0–0,0) p=0,13	0,0 (0,0–0,0) p=0,008
	+	40,3 (32,4–47,2)	37,8 (37,3–53,3) p=0,83	50,0 (47,5–56,0) p=0,30	0,0 (0,0–0,0) p=0,01	0,0 (0,0–0,0) p=0,008
ЛП-ХМВ	-	2,5 (1,4–4,0)	1,6 (1,5–1,7) p=0,60	0,8 (0,6–1,3) p=0,06	0,5 (0,3–0,7) p=0,02	0,8 (0,3–0,8) p=0,02
	+	40,3 (32,4–47,2)	36,5 (34,9–50,4) p=0,99	46,1 (27,8–52,8) p=0,99	35,2 (33,3–44,7) p=0,99	31,2 (29,7–35,6) p=0,54
ЛХ-М	-	2,5 (1,4–4,0)	1,3 (0,8–1,8) p=0,21	0,8 (0,7–1,3) p=0,06	0,3 (0,3–0,6) p=0,01	0,3 (0,3–0,5) p=0,008
	+	40,3 (32,4–47,2)	30,3 (29,5–44,6) p=0,53	33,1 (29,7–37,2) p=0,40	33,8 (28,9–40,2) p=0,68	21,6 (12,2–24,0) p=0,22
ЛХ-ХМВ	-	2,5 (1,4–4,0)	1,5 (0,5–1,7) p=0,21	0,6 (0,4–1,4) p=0,14	0,4 (0,2–0,9) p=0,06	0,2 (0,1–0,3) p=0,008
	+	40,3 (32,4–47,2)	38,6 (34,6–51,6) p=0,99	40,0 (33,0–44,2) p=0,99	36,9 (33,2–46,1) p=0,99	48,2 (37,0–52,0) p=0,54
ФХ	-	2,5 (1,4–4,0)	2,3 (0,6–3,3) p=0,40	2,2 (0,9–3,5) p=0,53	1,3 (0,5–1,4) p=0,25	1,5 (0,3–1,7) p=0,22
	+	40,3 (32,4–47,2)	44,3 (42,8–64,6) p=0,40	51,5 (45,8–59,1) p=0,25	50,0 (48,1–67,6) p=0,30	37,7 (32,9–48,6) p=0,99

Другими факторами, определяющими цитотоксичность тестируемых препаратов глицеролипидов, могут быть окисленные остатки жирных кислот и физико-химические характеристики липосом, формирующихся в экспериментальных условиях. Так, окисленные формы липидов могут быть губительными для клеток [23], а

по некоторым данным на цитотоксичность может влиять не только состав фосфолипидов, но также размер и тип липосом [24]. И если в текущем эксперименте контроль окисленности липидов не проводили, то эффект физического состояния липосом является маловероятным, поскольку препараты различались по

цитотоксичности при одних и тех же концентрациях, а яичный ФХ не проявлял токсичности при таком же диапазоне концентраций от 0,2 до 80 мкг/мл (табл. 2). Обнаруженная в исследовании [24] токсичность липосом, содержащих ФГ и ФС, в отношении культивируемых клеток человека проявлялась при концентрациях выше (более 98 мкг/мл), чем верхний предел используемой нами концентрации (80 мкг/мл).

Низкая исходная экспрессия клетками маркера CD69 (2,5%) и негативное влияние препаратов глицеролипидов на их жизнеспособность затрудняла оценку влияния препаратов на активацию МКПК в отсутствие дополнительной стимуляции ФМА и иономицином. В целом, для всех исследованных препаратов глицеролипидов наблюдали тенденцию к дозозависимому подавлению экспрессии CD69, которое проявлялось при концентрациях ниже тех, при которых они заметно снижали жизнеспособность МКПК: до 1,1% для препарата ЛП-М при концентрации 0,2 мкг/мл; до 0,8% для препарата ЛП-ХМВ при концентрации 2 мкг/мл; до 0,8% для препарата ЛХ-М при концентрации 2 мкг/мл; до 0,4% для препарата ЛХ-ХМВ при концентрации 20 мкг/мл (табл. 3). Однако критерии уровня значимости при этом были выше $p=0,05$, установленного как критическое значение: от 0,06 до 0,30 (табл. 3). Яичный ФХ, характеризующийся отсутствием влияния на жизнеспособность клеток, также обладал и наименее выраженным эффектом на экспрессию CD69, снижая в наименьшей степени число активированных МКПК только при максимальной концентрации 80 мкг/мл до 1,5%, что также не было статистически значимым ($p=0,22$, табл. 3). В целом, возможно, что морфологическим изменениям, сопровождающимся нарушением целостности клеточной мембранны и последующей гибели клеток, предшествуют функциональные изменения, препятствующие активации лимфоцитов.

Действие глицеролипидов на активацию МКПК не подтвердилось после их стимуляции ФМА и иономицином: при концентрациях, эффективных в отсутствие стимуляции, доля клеток, экспрессирующих CD69, оставалась на исходном уровне, понижалась или даже повышалась (табл. 3). В любом случае, статистически значимого влияния препаратов на активацию МКПК под действием ФМА/иономицина не было. В некоторой степени это связано с заметным влиянием липидов на жизнеспособность клеток в условиях стимуляции (табл. 2), таким образом, подход, использованный для оценки влияния на базальную активацию, в данном случае был неприменим.

Выводы

Проведенные эксперименты не подтвердили выдви-

нутую гипотезу, что липиды папоротника, имеющие в своем составе длинноцепочечные ПНЖК (АК, ЭПК и другие), усиливают реакцию МКПК в ответ на стимуляцию ФМА и иономицином. Напротив, липидные фракции, полученные из папоротника и хвоща, в отличие от одного из главных глицеролипидов клеточных мембран животных и человека, ФХ, обладают различной степенью цитотоксичности в отношении МКПК и ограниченно влияют на экспрессию маркера активации CD69 этими клетками. Такой характер действия, в целом, способствует иммуносупрессии. Полученные результаты позволяют вести целенаправленную работу по выделению активных компонентов липидных фракций и установлению их структуры и механизма действия. Хотя системное использование цитотоксического эффекта глицеролипидов маловероятно, их локальное применение при гипериммунном ответе может быть вполне оправданным. Особый интерес представляют возможности дифференцированного и специфичного уничтожения или подавления определенного типа иммунных клеток такими компонентами, что можно использовать в модельных экспериментах.

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 выполнено при финансовой поддержке программы «Дальний Восток» 2018–2020 (проект №18-3-019) и Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (тема госзаказа №122040800086-1]

Funding Sources

This work was supported by the Program of Fundamental Research of the Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences “Far East” 2018–2020 [project number 18-3-019] and the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation [project number 122040800086-1]

Благодарности

Авторы признательны д.б.н. В.И.Светашеву (Национальный научный центр морской биологии имени А.В.Жирмунского, г. Владивосток) за помощь в анализе жирных кислот препаратов липидов

Acknowledgements

The authors are grateful to ScD V.I.Svetashev (A.V.Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, Vladivostok) for his help in the analysis of fatty acids in the lipid preparations

ЛИТЕРАТУРА

1. Sen P., Kemppainen E., Orešić M. Perspectives on systems modeling of human peripheral blood mononuclear cells // Front. Mol. Biosci. 2018. Vol.4. Article number: 96. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00096>

2. Falcaí A., Soeiro-Pereira P.V., Kubo C.A., Aranda C.S., Solé D., Condino-Neto A. Peripheral blood mononuclear cells from severe asthmatic children release lower amounts of IL-12 and IL-4 after LPS stimulation // Allergol. Immunopathol. (Madr.). 2015. Vol.43, Iss.5. P.482–486. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2014.10.005>
3. Zambalde E.P., Teixeira M.M., Favarin D.C., de Oliveira J.R., Magalhaes M.L., Cunha M.M., Silva W.C., Okuma C.H., Rodrigues V., Levy B.D., de Paula Rogerio A. The anti-inflammatory and pro-resolution effects of aspirin-triggered RvD1 (AT-RvD1) on peripheral blood mononuclear cells from patients with severe asthma // Int. Immunopharmacol. 2016. Vol.35. P.142–148. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.03.014>
4. Kytikova O., Novgorodtseva T., Denisenko Y., Antonyuk M., Gvozdenko T. Pro-resolving lipid mediators in the pathophysiology of asthma // Medicina (Kaunas). 2019. Vol.55, Iss.6. Article number: 284. <https://doi.org/10.3390/medicina55060284>
5. Sokolowska M., Rovati G.E., Diamant Z., Untersmayr E., Schwarze J., Lukasik Z., Sava F., Angelina A., Palomares O., Akdis C.A., O'Mahony L., Sanak M., Dahlen S.-E., Woszczeck G. Current perspective on eicosanoids in asthma and allergic diseases: EAACI Task Force consensus report, part I // Allergy. 2021. Vol.76, Iss.1. P.114–130. <https://doi.org/10.1111/all.14295>
6. Capra V., Rovati G.E., Mangano P., Buccellati C., Murphy R.C., Sala A. Transcellular biosynthesis of eicosanoid lipid mediators // Biochim. Biophys. Acta. 2015. Vol.1851, Iss.4. P.377–382. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.09.002>
7. Powell W.S. Eicosanoid receptors as therapeutic targets for asthma // Clin. Sci. (Lond.). 2021. Vol.135, №16. P.1945–1980. <http://dx.doi.org/10.1042/CS20190657>
8. Nekrasov E.V., Svetashev V.I., Khrapko O.V., Vyssotski M.V. Variability of fatty acid profiles in ferns: Relation to fern taxonomy and seasonal development // Phytochemistry. 2019. Vol.162. P.47–55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.02.015>
9. Nekrasov E.V., Shelikhan L.A., Svetashev V.I. Fatty acid composition of gametophytes of Matteuccia struthiopteris (L.) Tod. (Onocleaceae, Polypodiophyta) // Botanica Pacifica. 2019. Vol.8, №1. P.63–66. <http://dx.doi.org/10.17581/bp.2019.08104>
10. Nekrasov E.V., Svetashev V.I. Edible Far Eastern ferns as a dietary source of long-chain polyunsaturated fatty acids // Foods. 2021. Vol.10, Iss.6. Article number: 1220. <http://dx.doi.org/10.3390/foods10061220>
11. Schlenk H., Gellerman J.L. Arachidonic, 5, 11, 14, 17-eicosatetraenoic and related acids in plants – identification of unsaturated fatty acids // J. Am. Oil Chem. Soc. 1965. Vol.42. P.504–511. <https://doi.org/10.1007/BF02540092>
12. Cifre M., Diaz-Rua R., Varela-Calvino R., Reynes B., Pericas-Beltran J., Palou A., Oliver P., Human peripheral blood mononuclear cell in vitro system to test the efficacy of food bioactive compounds: Effects of polyunsaturated fatty acids and their relation with BMI // Mol. Nutr. Food Res. 2017. Vol.61, Iss.4. Article number: 1600353. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600353>
13. Ameer F., Munir R., Usman H., Rashid R., Shahjahan M., Hasnain S., Zaidi N. Lipid-load in peripheral blood mononuclear cells: Impact of food-consumption, dietary-macronutrients, extracellular lipid availability and demographic factors // Biochimie. 2017. Vol.135. P.104–110. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.01.015>
14. Rundblad A., Holven K., Bruheim I., Myhrstad M., Ulven S. Effects of fish and krill oil on gene expression in peripheral blood mononuclear cells and circulating markers of inflammation: A randomised controlled trial // J. Nutr. Sci. 2018. Vol.7. Article number: e10. <https://doi.org/10.1017/jns.2018.2>
15. Sureda A., Martorell M., Bibiloni M.d.M., Bouzas C., Gallardo-Alfaro L., Mateos D., Capo X., Tur J.A., Pons A. Effect of free fatty acids on inflammatory gene expression and hydrogen peroxide production by ex vivo blood mononuclear cells // Nutrients. 2020. Vol.12, Iss.1. Article number: 146. <https://doi.org/10.3390/nu12010146>
16. Nekrasov E.V., Tallon S.J., Vyssotski M.V., Catchpole O.J. Extraction of lipids from New Zealand fern fronds using near-critical dimethyl ether and dimethyl ether–water–ethanol mixtures // J. Supercrit. Fluids. 2021. Vol.170. Article number: 105137. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.105137>
17. Büyüm A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction // Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl. 1968. Vol.97. P.7. PMID: 5707208
18. Hartnell A., Robinson D.S., Kay A.B., Wardlaw A.J. CD69 is expressed by human eosinophils activated in vivo in asthma and in vitro by cytokines // Immunology. 1993. Vol.80, Iss.2. P.281–286. PMID: 8262555; PMCID: PMC1422202.
19. Kew S., Banerjee T., Minihane A.M., Finnegan Y.E., Williams C.M., Calder P.C. Relation between the fatty acid composition of peripheral blood mononuclear cells and measures of immune cell function in healthy, free-living subjects aged 25–72 y // Am. J. Clin. Nutr. 2003. Vol.77, Iss.5. P.1278–1286. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.5.1278>
20. Quasney M.E., Carter L.C., Oxford C., Watkins S.M., Gershwin M.E., German J.B. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis in SNU-1 human gastric cancer cells by the plant sulfolipid, sulfoquinovosyldiacylglycerol // J. Nutr. Biochem. 2001. Vol.12, Iss.5. P.310–315. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(01\)00146-2](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(01)00146-2)
21. Mizushina Y., Watanabe I., Ohta K., Takemura M., Sahara H., Takahashi N., Gasa S., Sugawara F., Matsukage A., Yoshida S., Sakaguchi K. Studies on inhibitors of mammalian DNA polymerase α and β : Sulfolipids from a pteridophyte, *Athyrium niponicum* // Biochem. Pharm. 1998. Vol.55, Iss.4. P.537–541. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(97\)00536-9](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(97)00536-9)

22. Murakami C., Kumagai T., Hada T., Kanekazu U., Nakazawa S., Kamisuki S., Maeda N., Xu X., Yoshida H., Sugawara F., Sakaguchi K., Mizushina Y. Effects of glycolipids from spinach on mammalian DNA polymerases // Biochem. Pharm. 2003. Vol.65, Iss.2. P.259–267. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(02\)01483-1](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(02)01483-1)
23. Stemmer U., Dunai Z.A., Koller D., Purstinger G., Zenzmaier E., Deigner H.P., Aflaki E., Kratky D., Hermetter A. Toxicity of oxidized phospholipids in cultured macrophages // Lipids Health Dis. 2012. Vol.11. Article number:110. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-110>
24. Mayhew E., Ito M., Lazo R. Toxicity of non-drug-containing liposomes for cultured human cells // Exp. Cell Res. 1987. Vol.171. Iss.1. P.195–202. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(87\)90262-X](https://doi.org/10.1016/0014-4827(87)90262-X)

REFERENCES

1. Sen P., Kemppainen E., Orešič M. Perspectives on systems modeling of human peripheral blood mononuclear cells. *Front. Mol. Biosci.* 2018; 4:96. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00096>
2. Falcaí A., Soeiro-Pereira P.V., Kubo C.A., Aranda C.S., Solé D., Condino-Neto A. Peripheral blood mononuclear cells from severe asthmatic children release lower amounts of IL-12 and IL-4 after LPS stimulation. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)* 2015; 43(5):482–486. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2014.10.005>
3. Zambalde E.P., Teixeira M.M., Favarin D.C., de Oliveira J.R., Magalhaes M.L., Cunha M.M., Silva W.C., Okuma C.H., Rodrigues V., Levy B.D., de Paula Rogerio A. The anti-inflammatory and pro-resolution effects of aspirin-triggered RvD1 (AT-RvD1) on peripheral blood mononuclear cells from patients with severe asthma. *Int. Immunopharmacol.* 2016; 35:142–148. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.03.014>
4. Kytikova O., Novgorodtseva T., Denisenko Y., Antonyuk M., Gvozdenko T. Pro-resolving lipid mediators in the pathophysiology of asthma. *Medicina (Kaunas)* 2019; 55(6):284. <https://doi.org/10.3390/medicina55060284>
5. Sokolowska M., Rovati G.E., Diamant Z., Untersmayr E., Schwarze J., Lukasik Z., Sava F., Angelina A., Palomares O., Akdis C.A., O’Mahony L., Sanak M., Dahlem S.-E., Woszczeck G. Current perspective on eicosanoids in asthma and allergic diseases: EAACI Task Force consensus report, part I. *Allergy* 2021; 76(1):114–130. <https://doi.org/10.1111/all.14295>
6. Capra V., Rovati G.E., Mangano P., Buccellati C., Murphy R.C., Sala A. Transcellular biosynthesis of eicosanoid lipid mediators. *Biochim. Biophys. Acta* 2015; 1851(4):377–382. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbalip.2014.09.002>
7. Powell W.S. Eicosanoid receptors as therapeutic targets for asthma. *Clin. Sci. (Lond.)* 2021; 135(16):1945–1980. <http://dx.doi.org/10.1042/CS20190657>
8. Nekrasov E.V., Svetashev V.I., Khrapko O.V., Vyssotski M.V. Variability of fatty acid profiles in ferns: Relation to fern taxonomy and seasonal development. *Phytochemistry* 2019; 162:47–55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.02.015>
9. Nekrasov E.V., Shelikhan L.A., Svetashev V.I. Fatty acid composition of gametophytes of Matteuccia struthiopteris (L.) Tod. (Onocleaceae, Polypodiophyta). *Botanica Pacifica* 2019; 8(1):63–66. <http://dx.doi.org/10.17581/bp.2019.08104>
10. Nekrasov E.V., Svetashev V.I. Edible Far Eastern ferns as a dietary source of long-chain polyunsaturated fatty acids. *Foods* 2021; 10(6):1220. <http://dx.doi.org/10.3390/foods10061220>
11. Schlenk H., Gellerman J.L. Arachidonic, 5, 11, 14, 17-eicosatetraenoic and related acids in plants – identification of unsaturated fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1965; 42:504–511. <https://doi.org/10.1007/BF02540092>
12. Cifre M., Diaz-Rua R., Varela-Calvino R., Reynes B., Pericas-Beltran J., Palou A., Oliver P., Human peripheral blood mononuclear cell in vitro system to test the efficacy of food bioactive compounds: Effects of polyunsaturated fatty acids and their relation with BMI. *Mol. Nutr. Food Res.* 2017; 61(4):1600353. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600353>
13. Ameer F., Munir R., Usman H., Rashid R., Shahjahan M., Hasnain S., Zaidi N. Lipid-load in peripheral blood mononuclear cells: Impact of food-consumption, dietary-macronutrients, extracellular lipid availability and demographic factors. *Biochimie* 2017; 135:104–110. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.01.015>
14. Rundblad A., Holven K., Bruheim I., Myhrstad M., Ulven S. Effects of fish and krill oil on gene expression in peripheral blood mononuclear cells and circulating markers of inflammation: A randomised controlled trial. *J. Nutr. Sci.* 2018; 7:e10. <https://doi.org/10.1017/jns.2018.2>
15. Sureda A., Martorell M., Bibiloni M.d.M., Bouzas C., Gallardo-Alfaro L., Mateos D., Capo X., Tur J.A., Pons A. Effect of free fatty acids on inflammatory gene expression and hydrogen peroxide production by ex vivo blood mononuclear cells. *Nutrients* 2020; 12(1):146. <https://doi.org/10.3390/nu12010146>
16. Nekrasov E.V., Tallon S.J., Vyssotski M.V., Catchpole O.J. Extraction of lipids from New Zealand fern fronds using near-critical dimethyl ether and dimethyl ether–water–ethanol mixtures. *J. Supercrit. Fluids* 2021; 170:105137. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.105137>
17. Böyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. Introduction. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* 1968; 97:7. PMID: 5707208
18. Hartnell A., Robinson D.S., Kay A.B., Wardlaw A.J. CD69 is expressed by human eosinophils activated in vivo in

- asthma and in vitro by cytokines. *Immunology* 1993; 80(2):281–286. PMID: 8262555; PMCID: PMC1422202.
19. Kew S., Banerjee T., Minihane A.M., Finnegan Y.E., Williams C.M., Calder P.C. Relation between the fatty acid composition of peripheral blood mononuclear cells and measures of immune cell function in healthy, free-living subjects aged 25–72 y. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 77(5):1278–1286. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.5.1278>
20. Quasney M.E., Carter L.C., Oxford C., Watkins S.M., Gershwin M.E., German J.B. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis in SNU-1 human gastric cancer cells by the plant sulfolipid, sulfoquinovosyldiacylglycerol. *J. Nutr. Biochem.* 2001; 12(5):310–315. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(01\)00146-2](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(01)00146-2)
21. Mizushina Y., Watanabe I., Ohta K., Takemura M., Sahara H., Takahashi N., Gasa S., Sugawara F., Matsukage A., Yoshida S., Sakaguchi K. Studies on inhibitors of mammalian DNA polymerase α and β : Sulfolipids from a pteridophyte, *Athyrium niponicum*. *Biochem. Pharm.* 1998; 55(4):537–541. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(97\)00536-4](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(97)00536-4)
22. Murakami C., Kumagai T., Hada T., Kanekazu U., Nakazawa S., Kamisuki S., Maeda N., Xu X., Yoshida H., Sugawara F., Sakaguchi K., Mizushina Y. Effects of glycolipids from spinach on mammalian DNA polymerases. *Biochem. Pharm.* 2003; 65(2):259–267. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(02\)01483-1](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(02)01483-1)
23. Stemmer U., Dunai Z.A., Koller D., Purstinger G., Zenzmaier E., Deigner H.P., Aflaki E., Kratky D., Hermetter A. Toxicity of oxidized phospholipids in cultured macrophages. *Lipids Health Dis.* 2012; 11:110. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-110>
24. Mayhew E., Ito M., Lazo R. Toxicity of non-drug-containing liposomes for cultured human cells. *Exp. Cell Res.* 1987; 171(1):195–202. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(87\)90262-X](https://doi.org/10.1016/0014-4827(87)90262-X)

Информация об авторах:

Эдуард Витальевич Некрасов, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Амурский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения Российской академии наук; e-mail: ed_nekrasov@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

Author information:

Eduard V. Nekrasov, PhD (Biol.), Senior Staff Scientist, Amur Branch of Botanical Garden-Institute of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences; e-mail: ed_nekrasov@mail.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

Поступила 24.10.2022
Принята к печати 14.11.2022

Received October 24, 2022
Accepted November 14, 2022

УДК 616.27-006.2:616-073.756.8

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-102-119

КИСТЫ И КИСТОПОДОБНЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ СРЕДОСТЕНИЯ: КЛИНИКО-РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ

А.В.Леншин¹, Ю.М.Перельман¹, А.В.Ильин¹, А.В.Побережский², Е.А.Игнатьева¹, С.А.Крайнов¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

²Государственное автономное учреждение здравоохранения Амурской области «Амурский областной онкологический диспансер», 675000, г. Благовещенск, ул. Октябрьская, 110

РЕЗЮМЕ. Кистозные образования средостения представляют собой хорошо очерченные, чаще круглые образования, которые содержат жидкость и выстиланы эпителием. К основным кистозным образованиям относятся врожденные доброкачественные кисты (бронхогенные, дублирующие пищевод, нейроэнтэральные, перикардиальные и тимические кисты), менингоцеле, зрелые кистозные тератомы и лимфангиомы. Многие опухоли (например, тимомы, болезнь Ходжкина, опухоли зародышевых клеток, карциномы средостения, метастазы в лимфатические узлы, опухоли нервных корешков) могут подвергаться кистозной дегенерации, особенно после лучевой терапии или химиотерапии и демонстрировать смешанные солидные и кистозные элементы при компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ), а также приобретать структуру полостных образований при формировании распада опухоли. Если дегенерация обширна, такие опухоли могут быть практически неотличимы от врожденных кист. Однако, история болезни, визуализация анатомического расположения образования, некоторые детали, видимые при КТ или МРТ, позволяют во многих случаях поставить правильный диагноз. Знакомство с рентгенологическими особенностями кистозных образований средостения облегчает точную диагностику, дифференциацию от других кистообразных поражений и, таким образом, обеспечивает оптимальное лечение пациента.

Ключевые слова: кистозные и кистоподобные образования средостения, мультиспиральная компьютерная томография, постпроцессинговая обработка изображений, мультипланаарная реконструкция.

CYSTS AND CYST-LIKE FORMATIONS OF THE MEDIASTINUM: CLINICAL AND RADIOLOGICAL MANIFESTATIONS

A.V.Lenshin¹, J.M.Perelman¹, A.V.Ill'in¹, A.V.Poberezhskiy², E.A.Ignat'eva¹, S.A.Kraynov¹

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

²Amur Regional Oncology Dispensary, 110 Oktyabr'skaya Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

SUMMARY. Mediastinal cystic formations are well-shaped, often round formations that contain fluid and are lined with epithelium. The main cystic formations include congenital benign cysts (bronchogenic, duplicating the esophagus, neuroenteric, pericardial and thymic cysts), meningocele, mature cystic teratomas and lymphangiomas. Many tumors (e.g., thymomas, Hodgkin's disease, germ cell tumors, mediastinal carcinomas, lymph node metastases, nerve root tumors) may undergo cystic degeneration, especially after radiation or chemotherapy, and show mixed solid and cystic elements on computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI), as well as acquire the structure of cavity formations during the tumor destruction. If the degeneration is extensive, such tumors may be virtually indistinguishable from congenital cysts. However, the history of the disease, visualization of the anatomical location of the formation, some details

Контактная информация

Анатолий Васильевич Леншин, д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22; E-mail: lenshin42@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Anatoliy V. Lenshin, MD, PhD, DSc (Med.), Professor, Leading Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: lenshin42@mail.ru

Для цитирования:

Леншин А.В., Перельман Ю.М., Ильин А.В., Побережский А.В., Игнатьева Е.А., Крайнов С.А. Кисты и кистоподобные образования средостения: клинико-рентгенологические проявления // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.102–119. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-102-119

For citation:

Lenshin A.V., Perelman J.M., Ill'in A.V., Poberezhskiy A.V., Ignat'eva E.A., Kraynov S.A. Cysts and cyst-like formations of the mediastinum: clinical and radiological manifestations. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):102–119 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-102-119

visible on CT or MRI, allow in many cases to make the correct diagnosis. Familiarity with the radiographic features of mediastinal cystic lesions facilitates accurate diagnosis, differentiation from other cystic lesions, and thus ensures optimal treatment of a patient.

Key words: *cystic and cyst-like formations of the mediastinum, multispiral computed tomography, post-processing image processing, multiplanar reconstruction.*

Введение

Первичные кисты средостения представляют собой нечастые поражения, которые могут возникать из различных органов или структур средостения. Большинство из них врождённые по происхождению и являются случайными находками во время исследований по поводу несвязанных состояний. Гистологически кисты могут состоять из различных тканей, включая бронхогенные, перикардиальные, тимусные, кишечные, мюллеровы, лимфатические и паратиреоидные типы. Кисты средостения обычно имеют доброкачественное клиническое течение, и пациенты излечиваются после полной хирургической резекции [1]. В своём ретроспективном исследовании 52 больных, успешно оперированных по поводу кистозных медиастинальных образований, M.Mlika et al. [2] приводят некоторые статистические данные, характеризующие исследуемый контингент пациентов. Бронхогенные кисты встречались наиболее часто и составляли 57,69% всех образований. Кисты тимуса и кисты перикарда составляли 40,38 и 1,92% случаев, соответственно. Окончательный диагноз на основании микроскопического исследования совпал с рентгенологическими данными в 15 случаях, что составило 28% [2]. Перикардиальные кисты могут быть заподозрены по их характерному расположению в сердечно-диафрагмальном углу справа, кисты тимуса могут быть распознаны на основании их расположения в области тимуса, а бронхогенные кисты в основном расположены в среднем средостении.

Кистозные образования средостения характеризуются округлой формой с хорошо очерченными краями, чаще всего содержат жидкость и выстланы эпителием. К случайным кистозным образованиям относятся врожденные доброкачественные кисты (бронхогенные, дупликация пищевода, нейроэнтериальные, перикардиальные и тимусные кисты), менингоцеле, зрелая кистозная тератома и лимфангиома. Многие опухоли (например, тимомы, болезнь Ходжкина, опухоли половых клеток, карциномы) могут подвергаться кистозной дегенерации, особенно после лучевой терапии или химиотерапии и демонстрировать смешанные солидные и кистозные элементы при компьютерной томографии (КТ) или магнитно-резонансной томографии (МРТ), а также приобретать структуру полостных образований при формировании распада опухоли. Если дегенерация или деструкция обширны, то такие опухоли практически неотличимы от множества врожденных кист.

Наш собственный опыт свидетельствует о том, что заболевания кистоподобного характера, представлен-

ные в презентациях ниже, такие как ахалазия пищевода, гидатидозная киста средостения, ценкеровский дивертикул, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы, при визуализации могут составить некоторые трудности в дифференциальной диагностике с истинными кистозными заболеваниями. Тем не менее, анализ истории болезни, закономерности анатомического расположения образований и некоторые особенности рентгеносемиотики при КТ или МРТ во многих случаях могут способствовать правильной постановке диагноза.

Демонстрация собственных клинико-рентгенологических наблюдений

Презентация I. Киста вилочковой железы.

Кисты тимуса встречаются редко и составляют 1% от всех образований средостения. Они могут быть врожденными или приобретенными. Врожденные кисты вилочковой железы происходят из открытого тимофорингеального протока [3]. Симптоматика кист вилочковой железы может быть разнообразной – от бессимптомного течения до осложненного. Достигнув известных размеров, кисты могут вызывать медиастинальный «компрессионный» синдром. В некоторых случаях на первый план выходит миастенический синдром [4]. Опасность кист вилочковой железы заключается в риске нагноения, прорыва в плевру, кровотечении [5].

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Больной Т., 35 лет. Выявлено кистозно-солидное образование (кистозная тимома), исходящее из левой доли тимуса, в сочетании с саркоидной лимфаденопатией (рис. 1). Клинически жалоб не предъявляет. Находился на лечении в клинике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД) по поводу ХОБЛ.

Мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) выполнена в плане реализации протокола клинического обследования стационарного больного. Интерпретация результатов МСКТ:

Рис. 1А – мультипланарная реконструкция (МПР) в коронарной проекции (трахеобронхиальный срез, режим лёгочного электронного окна). В области левого корня (жёлтая стрелка) выявляется объёмное образование, тесно прилегающее к левому главному бронху. Структура образования неоднородная, в центре визуализируется полость, содержащая жидкость (3,0–4,5 HU).

Рис. 1Б – аксиальное сканирование после внутреннего контрастного усиления – визуализируется

округлое кольцевидное образование с толстыми стенками, содержащее жидкостную субстанцию (жёлтая стрелка). Образование тесно прилежит к контрастированной левой легочной артерии.

Рис. 1В – МПР в левой боковой проекции. Корректировка расположения полости в опухоли (верхняя половина). В стенке образования визуализируется очаговый кальциноз. По данным M.Marom [6], при КТ-исследовании в тимомах нередко наблюдаются очаговые и ходовые кальцификаты.

Рис. 1Г – объёмный рендеринг в коронарной проекции – круглое образование (жёлтая стрелка), исходящее из левой доли тимуса (белая стрелка).

Рис. 1Д – объёмный рендеринг в левой боковой

проекции – синей стрелкой обозначены медиастинальные внутригрудные лимфоузлы (ВГЛУ), отчётливо визуализируемые только в этой проекции (наведение при прокрутке объёмного изображения на экране монитора).

Рис. 1Е – послеоперационный макропрепаратор – обращает на себя внимание полная идентичность анатомических и рентгенологических изменений формы и структуры кистозно-сольидного образования в предвискеральном отделе средостения. Убедительное формирование диагноза возможно уже на этапе первичного (амбулаторного) МСКТ исследования, дополненного внутривенным контрастным усиливанием.

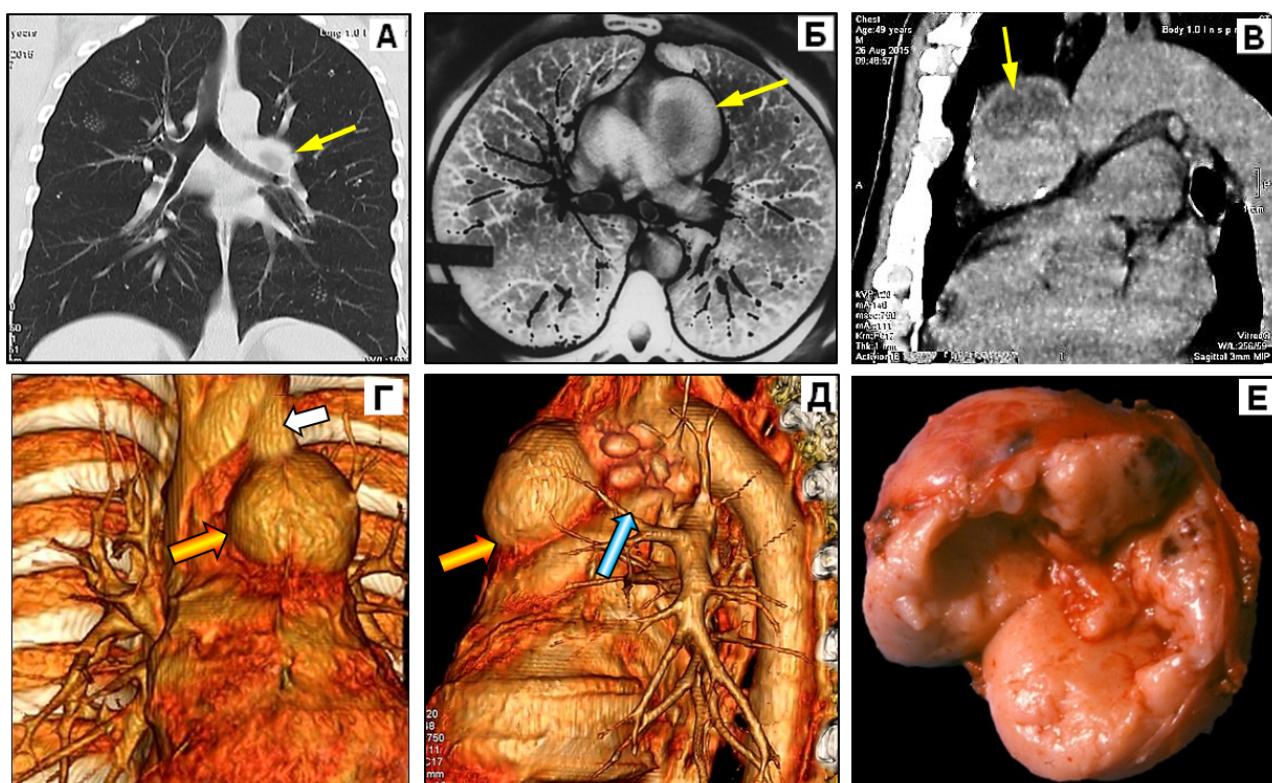


Рис. 1. Больной Т., 35 лет. Кистозно-сольидное образование, исходящее из левой доли тимуса (Г – белая стрелка) в сочетании с медиастинальным саркоидозом (Д – синяя стрелка). Пояснения в тексте.

Презентация II. Многокамерная кистозная тимома, как вариант приобретённого генезиса.

Многокамерные кисты тимуса это приобретенные поражения, которые в большинстве случаев диагностируются случайно и связаны с другими состояниями, такими как воспаление, инфекция, чаще возникают бессимптомно у мужчин. Большие многокамерные кисты выявляются примерно у 1% детей, инфицированных вирусом иммунодефицита человека [7, 8]. Наблюдается кистозное расширение медуллярных эпителиальных протоковых структур, индуцированных воспалением. Воспаление обычно идиопатическое, но в некоторых случаях специфическое, например, при ВИЧ [9].

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Больная К., 55 лет. Из анамнеза: в течение двух месяцев предъявляла жалобы на кашель, одышку, боли в груди. Физический осмотр не выявил значимых результатов. Рентгенография и электрорентгенотомография (ЭРТГ) органов грудной клетки (рис. 2) показали образование с четко очерченными границами, располагающуюся в переднем средостении (локализация характерна для тимомы).

На снимках, в переднем средостении, большое справа (граница верхнего и среднего этажей) определяется вытянутое (по вертикали) овальное формы образование (указано стрелкой), размерами 4×7 см.

Анализируя структуру тени образования на ЭРТГ и учитывая её ячеистый характер, полностью не исключалось мультилокулярное кистозное образование, по локализации характерное для тимомы.

Макропрепарат – капсулированное жидкостное кистозное образование. На разрезе имеются 2 полости (камеры с тонкими стенками), содержащие прозрачную, однородную соломенного цвета жидкость. Во внутренней камере содержится множество мелких кист (рис. 2Д).

При гистопатологическом анализе хирургически удалённой кисты обнаружено поликистозное поражение, покрытое плоским и кубическим эпителием, без цитологической атипии с остатком тимуса в стенке и индексом клеточной пролиферации 0-1% в эпителиальном слое выстилки кисты. Никаких изменений в прилегающей жировой ткани не зарегистрировано. Диагностика многокамерной кисты тимуса подтвердилась.

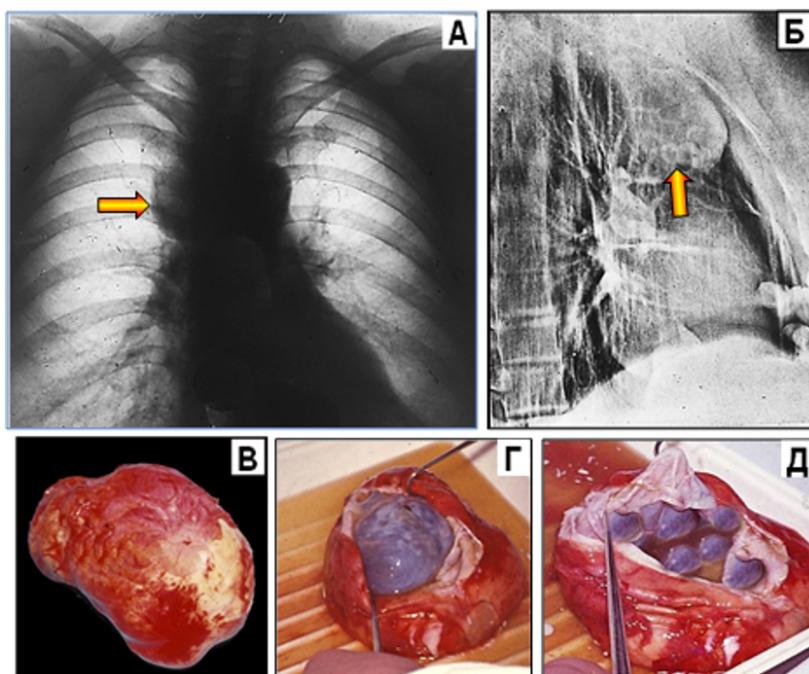


Рис. 2. Многокамерная киста тимуса. (А) – рентгенограмма ОГК во фронтальной проекции. По правому контуру выступает небольших размеров округлое образование. (Б) – ЭРТГ на бумажном носителе – в правой боковой проекции в состоянии пневмомедиастинума. На границе верхнего и среднего этажей переднего средостения определяется овальной формы капсулированное образование 4×7 см. Неоднородной структуры за счёт ячеистой (кистозной?) трансформации рисунка. (В, Г, Д) – этапы макроскопического изучения двухкамерной кисты. Первый этап (Г) – вскрытие наружной камеры заполненной жидкостью. Второй этап (Д) – вскрытие внутренней камеры, заполненной множеством мелких (1-1,5 см) кистозных образований, свободно плавающих в жидкости или прикреплённых к стенке кисты.

Презентация III. Кистозная мальформация (лимфангома) грудного лимфатического протока.

Кистозные мальформации грудного лимфатического протока (КМГЛП) это доброкачественные, редко встречающиеся лимфососудистые поражения, возникающие в результате эмбриологических нарушений (слабости стенки протока и клапанного механизма) в развитии лимфатической системы. Медиана распространённости составляет менее 1% среди всех кистозных образований средостения [10]. Эффективная неинвазивная диагностика этого заболевания при первичном обращении пациента уже на амбулаторном этапе заслуживает профессиональной оценки.

КМГЛП часто возникают в областях с обильно развитой лимфатической тканью, таких как области головы и шеи, грудного лимфатического протока, но их также можно найти в любом анатомическом участке тела [11]. Левосторонняя локализация выявленных патологических изменений с вовлечением в процесс одновременно средостения и шеи может быть триггером поражения грудного лимфатического протока (по месту расположения), а значит, залогом успешной диагностики заболевания.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Пациентка З., 26 лет, отмечает незначительную безболезненную припухлость в нижней половине шеи и надключичной области слева. Данные изменения с детства, к врачам не обращалась. При выполнении плановой флюорографии по месту жительства заподозрено объёмное образование в средостении (фрагмент рис. 3А). Направлена на консультацию в ДНЦ ФПД.

Выполнена МСКТ с постпроцессинговой обработкой (мультипланарная реконструкция – МПР) первичного изображения (рис. 3Б). Выявлены признаки распространенного левостороннего поликистозного образования, локализованного в области шеи и средостения. Данная локализация и характер выявленных изменений характерны для кистозного образования, исходящего из грудного лимфатического протока. Выявлены крупные и мелкие кистозные образования, оптическая плотность которых выше (18-31HU), чем плотность воды.

В условиях хирургического стационара на первом этапе произведена пункция шейного образования, получена хилёзная жидкость. На втором – радикальное

хирургическое удаление образования из комбинированного шейно-стerno-торакотомного доступа.

На рис. 3В – изображение операционного поля. Больших размеров киста обозначена синей стрелкой, множественные мелкие кисты – желтыми стрелками. Белой стрелкой обозначен увеличенный фрагмент поверхности одной из кист – отчетливо визуализируется сеть поверхностных лимфатических сосудов, свидетельствующих о лимфостазе. M.Gupta et al. [10] подоб-

ную картину (сетку лимфопутей) наблюдали с помощью контрастной лимфангиографии в образовании, располагавшемся в надключичной области.

Для иллюстрации изменений в операционном поле на рисунке 3Г приведена схема кистозных изменений, заимствованная из классификации ISSVA: синяя стрелка – крупнокистозная мальформация, жёлтые стрелки – мелкокистозная мальформация.

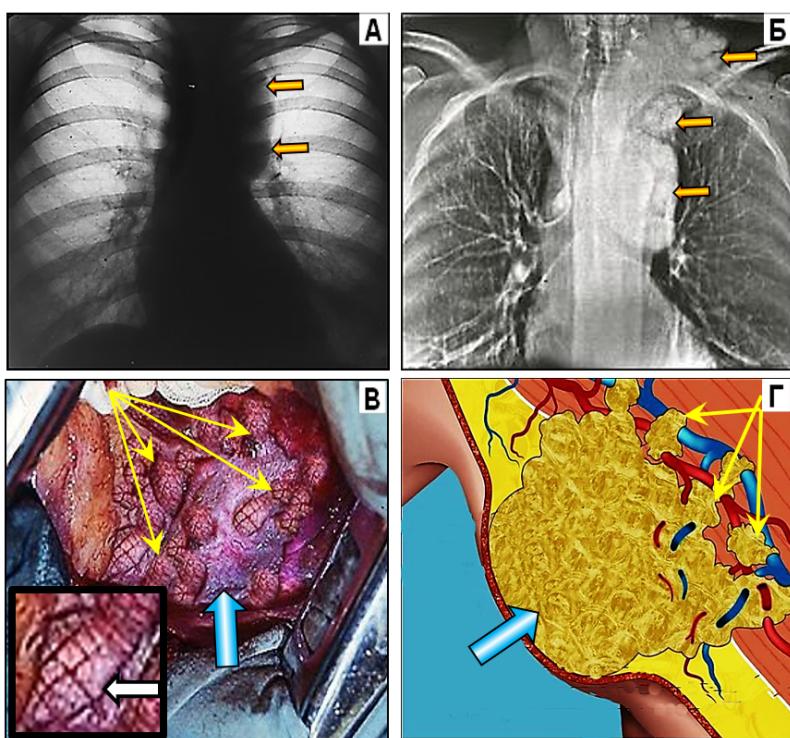


Рис. 3. Пациентка З., 26 лет. КМГЛП – левосторонняя локализация: надключичная область, подключичная область, средостение.

(А) – рентгенограмма во фронтальной проекции – расширение тени средостения влево. (Б) – МСКТ, МПР во фронтальной проекции грудной клетки и нижней половины шеи – множественные кистозные образования слева: в шее, подключичной области, в средостении (24–36HU) – повышенная плотность, превышающая плотность серозной жидкости за счёт хилёзного содержимого. (В) – фрагмент операционного поля (часть лимфы удалено пункционным способом). Синяя стрелка – большая киста (5 см), жёлтые стрелки – прилегающие мелкие кисты. Сетчатая структура поверхностей мелких кист обусловлена сетью лимфатических сосудов. (Г) – схема классификации ISSVA: синяя стрелка – крупнокистозная мальформация, жёлтые стрелки – мелкие кисты.

Презентация IV. Бронхогенная киста средостения.

Бронхогенная киста средостения (БКС) это врожденное жидкостное полостное образование с генетической детерминацией при формировании трахеобронхиальной системы. В качестве основного механизма эмбриональных нарушений принято считать некорректное разделение первичной кишки на пищеварительную и дыхательную трубы [12–14]. Характерно, что если формирование порока происходит на раннем этапе эмбрионального периода, то образуется кистозное образование в области средостения, а в более позднем периоде – в легочной ткани [15]. В средостении наиболее частой локализацией БКС является зона, расположенная непосредственно под бифуркацией трахеи, более редко наблюдается в паратрахеальной клетчатке.

Среди всех опухолей легких и средостения удельный вес БКС составляет 2-5% [14]. Нередко БКС клинически себя ничем не проявляют и обнаруживаются при прохождении пациентами скрининговой рентгенографии или, чаще всего, при выполнении КТ у паци-

ентов с респираторными симптомами.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Больная Г., 63 лет, обратилась в клинику ДНЦ ФПД с жалобами на сердцебиение, давящие боли в области сердца, отдающие в левую лопатку и плечо. Со стороны органов дыхания и кровообращения при объективном обследовании никаких патологических изменений не выявлено. Из анамнеза: неоднократно амбулаторно и стационарно лечилась в различных медицинских учреждениях по месту жительства по поводу респираторных и кардиогенных заболеваний, хронического пиелонефрита. При неоднократных рентгенологических обследованиях патологических изменений в органах грудной клетки не находили, КТ не проводилась.

На рисунке 4 представлена комбинация МСКТ-реконструкций, максимально полно отображающих характер выявленных изменений.

При МСКТ (рис. 4 А, Б, В), в среднем этаже заднего средостения визуализируется округлое жидкостное кистозное тонкостенное образование (желтые стрелки),

размерами $48 \times 55 \times 50$ мм, с четкими контурами. Структура образования однородная, средняя плотность до 23 HU (жидкостное содержимое), толщина стенки до 2-3 мм. Данное образование смещает правый промежуточный бронх вправо и компрессирует его (розовая стрелка, кадр Г). Несмотря на циркулярное сужение бронха, признаков нарушения бронхиальной проходимости не зарегистрировано. Кадры Д и Е – объёмный рендеринг в правой боковой проекции, динамическое исследование (3 мес.) саркоидной лимфаденопатии.

Клинико-рентгенологическое заключение: бронхогенная киста среднего этажа, преимущественно заднего средостения, осложненная стенозом промежуточного бронха справа без нарушения вентиляционной функции легких, сочетающаяся с медиастинальной (ВГЛУ) формой саркоидоза. В апреле 2017 г. выполнена операция: резекция кисты с помощью Video-assisted thoracic surgery (VATS), биопсия ВГЛУ. Диагноз БКС и саркоидоза верифицирован.

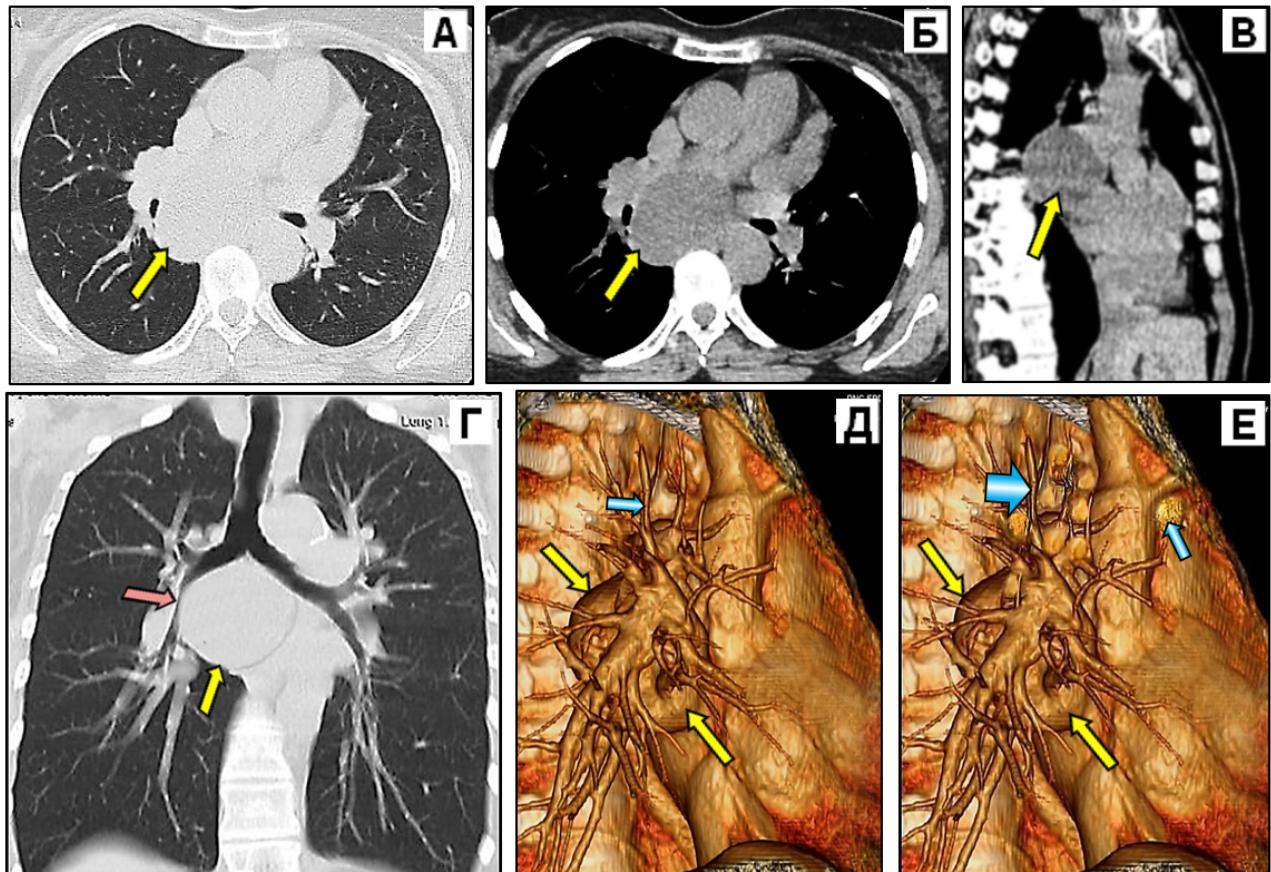


Рис. 4. Больная Г, 63 года. МСКТ: (А) – аксиальный срез на уровне бифуркации трахеи, легочное окно. (Б) – аксиальный срез на том же уровне, мягкотканое окно; (В) – МПР, мягкотканое окно, правая боковая проекция; (Г) – МПР, фронтальная проекция, легочное окно; (Д) – объёмный рендеринг в правой боковой проекции; (Е) – объёмный рендеринг в правой боковой проекции (динамическое наблюдение через 3 мес.). На серии снимков бронхогенная киста обозначена желтыми стрелками, компрессированный правый промежуточный бронх (Г) – розовой стрелкой; ВГЛУ (Д, Е в динамике) – синими стрелками.

Презентация V. Дупликационная (энтерогенная) киста пищевода.

Кисты пищевода представляют собой редкие врожденные пороки развития. Выделяют 2 категории кист пищевода: простые кисты, выстланные эпителием, и кистыrudиментарной передней кишки, которые включают дупликационные кисты (ДКП). ДКП имеют двойной слой окружающих гладких мышц, которые выстланы плоским или тонкокишечным эпителием, и либо прикрепляются к пищеводу, либо располагаются внутри его стенки [15]. Как правило, ДКП диагности-

руются в детстве, но могут проявляться и у взрослых. Они могут протекать бессимптомно или сопровождаться симптомами дыхательной недостаточности, дисфагией и/или болями в груди.

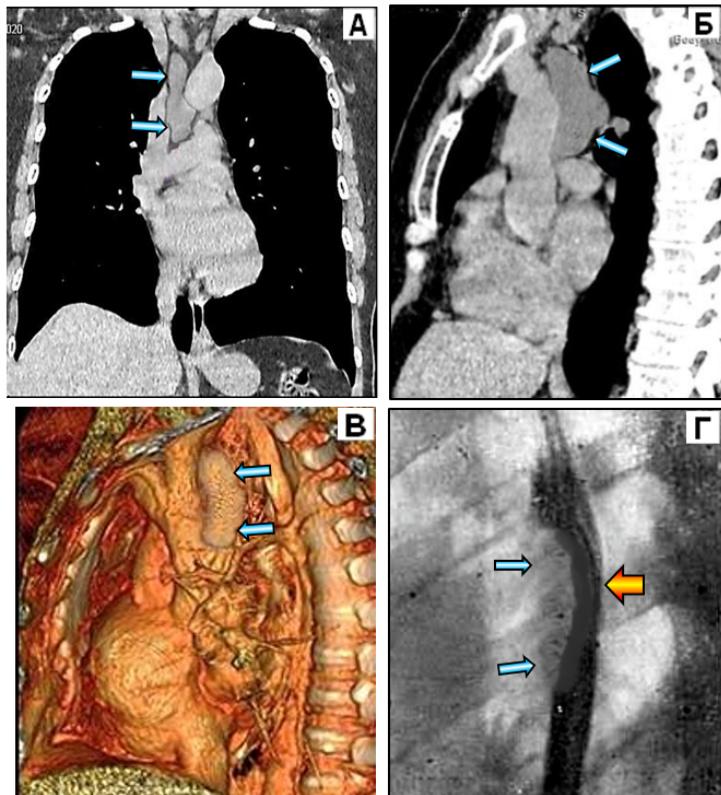
ДКП обычно являются случайными находками при эндоскопии или визуализирующих исследованиях, таких как КТ, МРТ или бариявая эзофагография.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Молодой человек К., 24 года, направлен на консультацию в ДНЦ ФПД для проведения МСКТ с целью

уточнения характера изменений в лёгких, выявленных при рентгенологическом исследовании по месту жительства.

На рисунке 5 представлена комбинация снимков, выполненных при МСКТ (А, Б и В) и рентгенологическом исследовании пищевода, с контрастированием барием (Г). При МСКТ в заднем средостении, позади и справа от пищевода, выявляется кистозное, сигарообразной формы образование с чёткими волнистыми контурами, размерами 15×4 см, плотностью 7-12 HU, однородной структуры.



однородной структуры.

При рентгенологическом исследовании пищевода с контрастированием барием на границе верхней и средней трети грудного отдела пищевода по передне-правой стенке определяется дефект наполнения с частичным сужением и отклонением пищевода кзади. Визуализируется полутень кистозного образования, обозначенного на снимке (рис. 5Г) синими стрелками. Отчётливо видно, что кистозное образование исходит из передне-правой стеки пищевода (дупликация).

Рис. 5. Больной К., 24 г. Дупликационная (энтерогенная) киста пищевода: МСКТ (А, Б, В) и рентгенограмма (Г) органов грудной клетки

(А) – МПР во фронтальной проекции, висцеральный (срединный) отдел, оптимальный уровень для визуализации продолговато-овальной (сигарообразной) формы кистозного образования, гиподенсивной плотности (7-12 HU), однородной структуры, с чёткими волнистыми контурами (синие стрелки).

(Б) – МПР в левой боковой проекции. (В) – объёмный рендеринг в левой боковой проекции – киста обозначена синими стрелками.

(Г) – прицельная (при рентгеноскопии), рентгенограмма пищевода в левой косой проекции – компрессия (спереди-справа) дуплексной кистой с пароазофагеальным или интраэзофагеальным расположением (жёлтая стрелка). Синие стрелки – возможное теневое отображение прилежащей пароазофагеальной кисты.

Наиболее распространенным методом лечения является торакотомия с иссечением кисты, но все большую популярность набирают менее инвазивные методы, в том числе эндоскопический, лапароскопический или торакоскопический подходы.

Презентация VI. Зрелая кистозная тератома (тератодермоидная киста).

Зрелые кистозные тератомы (дермоидные кисты) представляют собой кистозные опухоли, состоящие из хорошо дифференцированных образований, по крайней мере, из двух-трех слоев зародышевых клеток (эктодермы, мезодермы и энтодермы). Эктодермальные элементы могут быть представлены кожей, зубами и волосами; мезодермальные элементы – костями, хрящами и мышцами; и энтодермальные элементы – эпителием бронхов и желудочно-кишечного тракта и тканью поджелудочной железы. Кисты заполнены сальным веществом и могут содержать волосы. Волосяные фолликулы, кожные железы, мышцы и другие ткани лежат внутри стенки. Зрелые кистозные тера-

томы – наиболее частое новообразование половых клеток. Они чаще диагностируются у молодых людей. Большинство из них протекает бессимптомно и случайно обнаруживается, но большие опухоли могут вызывать боль в груди, одышку, кашель или другие симптомы сдавления [16]. Большинство дермоидных кист находится в переднем средостении, и только 3–8% приходится на заднее средостение [17, 18].

При рентгенографии кистозные тератомы обычно выглядят как резко очерченные, округлые или дольчатые образования переднего средостения. Кальцификация, окостенение или даже зубы могут быть видны на рентгенограммах грудной клетки [19]. На КТ эти опухоли представляют собой гетерогенные четко очерченные образования со стенками различной толщины, которые могут увеличиваться [16, 20]. Они могут содержать все четыре типа тканей, включая мягкие ткани, жидкость, жир и кальций, но обычно выделяются кистозные компоненты, содержащие жидкость [20]. Заслуживает внимание сообщение K.H.Moeller et al. [19], что зрелые тератомы средостения практически

во всех случаях содержат мягкие ткани, жидкость – 88%, жир – 76% и кальций – 53%. Все эти элементы присутствуют в одном и том же поражении в 39% случаев. В 15% случаев тератомы состоят только из кистозных образований, не содержащих ни жира, ни кальцификации. Большинство кистозных тератом являются мультилокулярными, но встречаются и однокамерные кистозные поражения. Уровень жидкости в массе – это очень специфическая находка, но наблюдается реже [19, 21].

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение №1.

Больная Р., 45 лет. При плановой рентгенографии

органов грудной клетки по месту жительства выявлено опухолевидное образование в области правого корня. Направлена на консультацию в ДНЦ ФПД. Жалоб больная не предъявляет. Последняя флюорография была сделана 4 года назад – без патологических изменений (как утверждает пациентка). Врачебная ошибка, учитывая несложную визуализационную ситуацию, исключается полностью. Значит, у пациентки были свои скрытые мотивы давать ложную информацию.

На рисунке 6 представлена комбинация из серии рентгенограмм, линейной ЭРТГ и КТ, в сопоставлении с результатами послеоперационных патанатомических исследований.

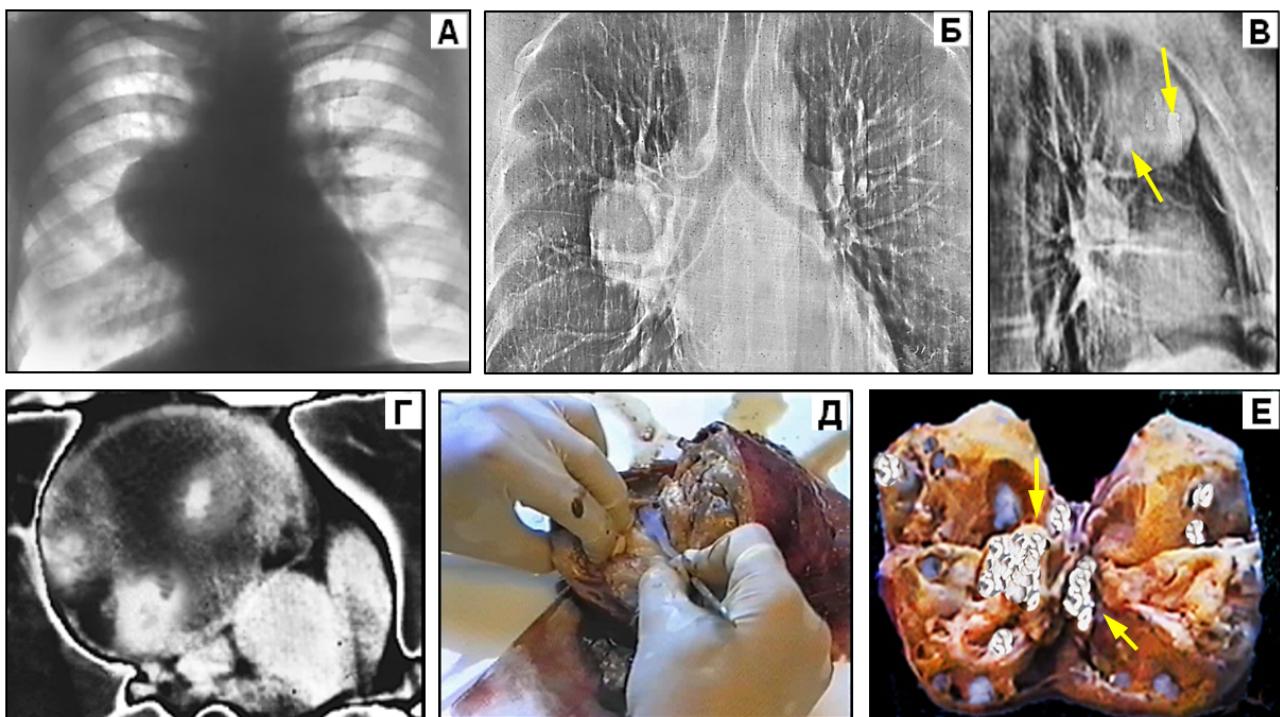


Рис. 6. Больная Р., 45 лет. Тератодермоидная киста переднего средостения. Наблюдение №1. (А) – рентгенограмма органов грудной клетки во фронтальной проекции. (Б) – ЭРТГ на бумажном носителе во фронтальной проекции, в состоянии пневмомедиастинума. (В) – ЭРТГ в правой боковой проекции (пневмомедиастинум), стрелками указаны костные фрагменты. (Г) – МСКТ с внутривенным контрастным усиливанием, прицельная аксиальная проекция. (Д) – этап послеоперационного исследования удалённой кисты. (Е) – макропрепаратор резецированной кисты, костные фрагменты (стрелки).

По данным рентгенологических исследований (А, Б и В) в переднем средостении выявлена опухоль, по характеру доброкачественная, а учитывая локализацию (В) и кальцинаты (стрелки), характерна для тератодермоидной кисты. (Г) – МСКТ, аксиальная проекция с контрастным усилением. Отчётливо выявляются глыбчатые костные фрагменты. Капсула накапливает контраст. Содержимое кисты – жир и жидкость. (Д и Е) – макропрепарат. Мультилокулярная киста. Разрезается с трудом из-за костных фрагментов (стрелки). При разрезе скальпелем жидкость разбрзгивается под давлением. Попадаются единичные волосы.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение №2.

Больная Ш., 56 лет. Жалоб, обусловленных воздействием объёмного образования, не отмечает.

При выполнении МСКТ (рис. 7Г), в просвете объёмного образования визуализируются 2 костных фрагмента, весьма характерных для тератодермоидной кисты.

Презентация VII. Целомическая киста перикарда.

Киста перикарда обычно считается врожденной аномалией, и у большинства пациентов она диагностируется по случайным находкам при рутинной визуали-

зации органов грудной клетки. В редких случаях они могут проявляться симптомами и требуют лечения или вмешательства. Перикардиальные (мезотелиальные) кисты возникают в результате аберраций при формировании целомических (соматических) полостей. Кисты перикарда неизменно связаны с перикардом, но при операции только в нескольких случаях наблюдается видимая связь с перикардиальным мешком. Большинство кист перикарда возникают в переднем кардиодиафрагмальном углу, чаще с правой стороны, но их можно увидеть выше, чем углубления перикарда на уровне проксимальной части аорты и легочных артерий. Иногда кисты имеют ножку. Клинической симптоматики, как правило, не вызывают [22–24]. При обычной рентгенографии эти кисты выглядят как четко очерченные, круглые или овальные образования в кардиодиафрагмальном углу [25].

Перикардиальные кисты считаются редкими, с приблизительной частотой 1 на 100 тыс. человек и состав-

ляют примерно 33% всех кист средостения и 7% образований средостения [26]. Они обычно обнаруживаются как случайная находка при рутинной визуализации и диагностируются в любом возрасте, в том числе антенатально и у пациентов до 102 лет [27].

На рентгенограммах грудной клетки кисты перикарда выявляются в виде округлых ограниченных образований, прилегающих к сердцу, наиболее часто в правом кардиодиафрагмальном углу (от 51 до 70%). Они встречаются реже в левом кардиодиафрагмальном углу, с зарегистрированной частотой от 22 до 38%. Наконец, медиастинальные участки, не прилегающие к диафрагме, составляют примерно от 8 до 11% [28].

Бесконтрастная КТ (рис. 8) является методом выбора для визуализации и постановки диагноза, поскольку она позволяет дать точную информацию об анатомической локализации и структурных характеристиках образований.

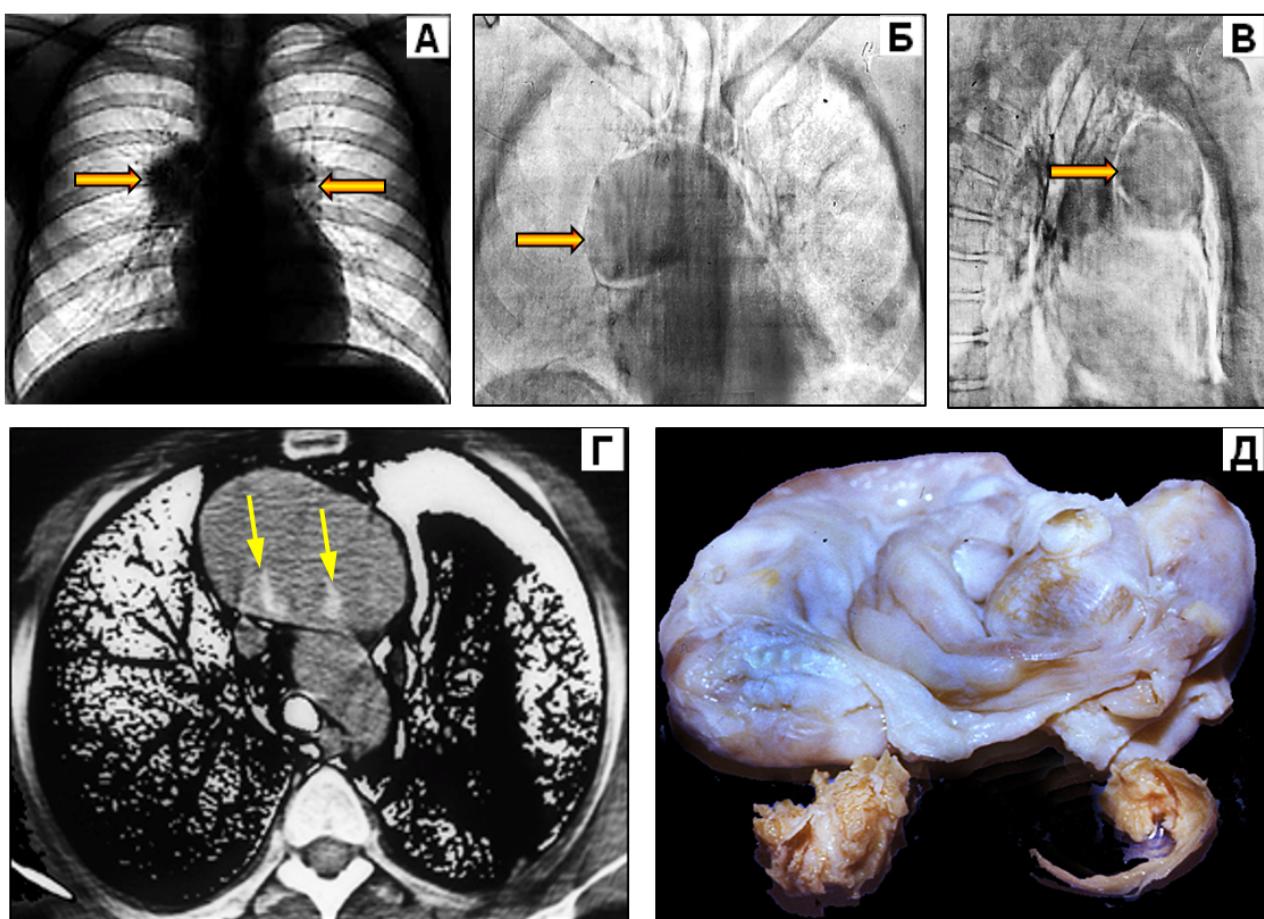


Рис. 7. Больная Ш., 56 лет. Зрелая кистозная тератома (тератодермоидная киста). Наблюдение 2. (А) – рентгенограмма ОГК во фронтальной плоскости. ЭРТГ на бумажном носителе в условиях пневмомедиастинума во фронтальной проекции (Б) и правой боковой (В) проекциях. (Г) – МСКТ, аксиальная проекция (пневмоторакс и пневмомедиастинум) – в просвете образования дифференцируются 2 костных фрагмента (стрелки). (Д) – макропрепаратор удалённой тератодермоидной кисты с двумя костными фрагментами.

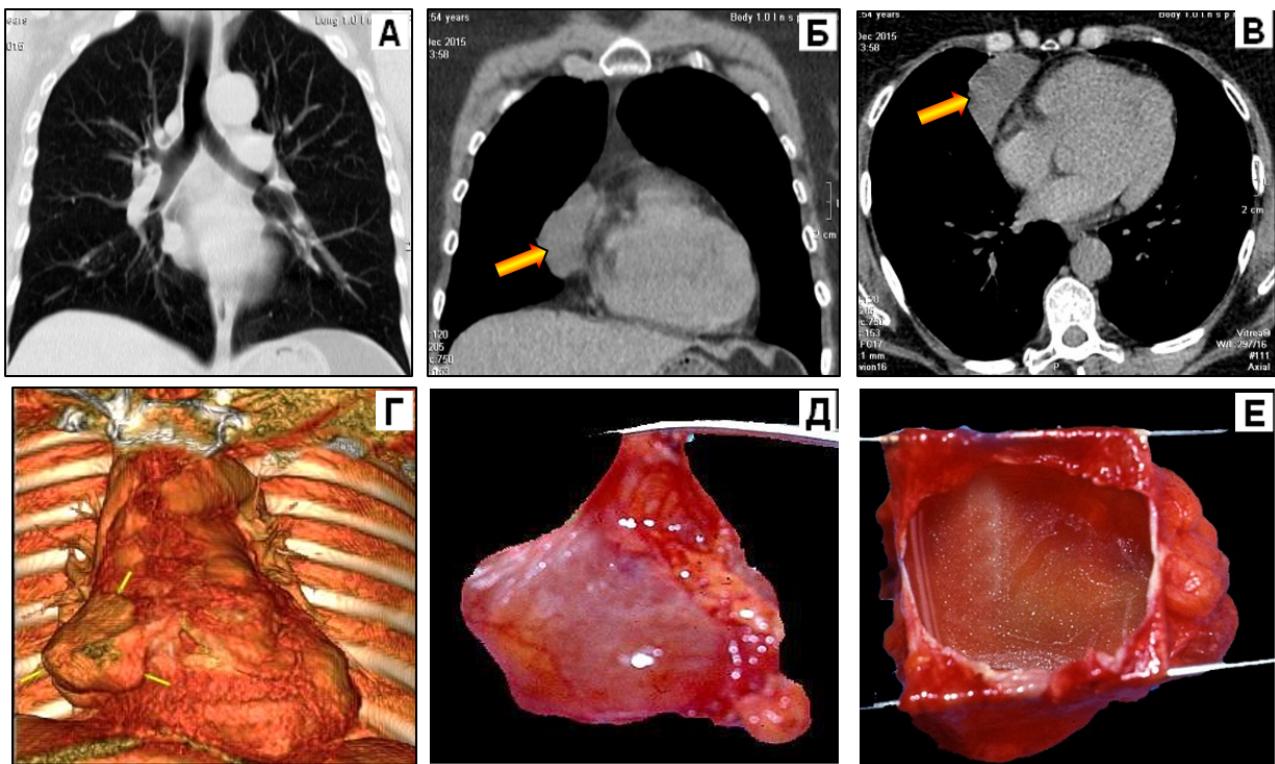


Рис. 8. Больная Г., 54 года. Целомическая киста перикарда. (А) – МСКТ, МПР во фронтальной проекции – легочное окно визуализации, фронтальная плоскость, трахеальный срез. (Б) и (В) – МПР, мягкотканое окно во фронтальной и, аксиальной плоскостях: выявляется полостное образование, заполненное жидкостью (± 1 HU), четко ограниченное от перикарда. (Г) – 3D-реконструкция, фронтальная проекция, жидкостное образование отмечено стрелками. (Д) и (Е) – фото макропрепарата. (Е) – кистозное образование вскрыто, содержимое – прозрачная со-ломенного цвета жидкость.

Презентация VIII. Эхинококковая (гидатидная) киста средостения.

Эхинококковая болезнь остается серьезной проблемой для здоровья, в первую очередь, среди средиземноморских стран. Проживание в сельской местности является важным фактором риска заболевания, что необходимо учитывать при дифференциальной диагностике заболевания. Эхинококковые кисты обычно фильтруются в печени, реже в легких и головном мозге. Медиастинальное эхинококковое заболевание по данным литературных источников встречается очень редко [29, 30].

Заслуживает внимания публикация турецких специалистов [31]. Авторы ретроспективно за 17-летний период наблюдения проанализировали результаты оперативного лечения 11 больных с эхинококковой кистой средостения. Медиана возраста составила 28,4 года и колебалась от 19 до 46 лет. Симптомы включали боль в груди у девяти (82%) и кашель у шести пациентов (54%). Киста располагалась в переднем средостении у четырех (36%), в заднем средостении у пяти (45%) и в среднем средостении у двух пациентов (18%).

По данным авторов, эхинококкоз средостения ни клинически, ни рентгенологически не отличается от других кистозных поражений средостения. Дифферен-

циальный диагноз в таких случаях можно провести только при хирургическом вмешательстве. Во всех авторских наблюдениях диагноз был поставлен только хирургическим путем. Для диагностики эхинококковой кисты применялась реакция непрямой гемагглютинации, которая была положительной в пяти случаях. Тесты Казони и Вайнберга обычно не использовались из-за высокого уровня ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

Симптомы и осложнения кисты зависят от размера, локализации и вовлечения соседних структур [32, 33]. Если и присутствуют симптомы, связанные с кистой, то они представляют собой компрессию или эрозию соседних структур. Они варьируют от загрудинной боли, кашля, дисфагии до одышки или тяжелой компрессии трахеи и верхней полой вены.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Больная З., 34 г., жительница сельской местности. Животновод. Жалоб не предъявляет, заболевание обнаружили случайно, при флюорографии.

На рентгенограмме органов грудной клетки во фронтальной проекции (А) и при объемном рендеринге на МСКТ (Б) по левому контуру сердца в аортальном окне отчетливо визуализируется образование овальной

формы с чёткими краями, размерами до $3 \times 4,5$ см. На кадрах В и Г в центре образования фиксируется полость, заполненная жидкостью с кальцинозом внутренней стенки.

Заключение рентгенолога. По характеру выявленных изменений и локализации образования было вы-

сказано предположение о кистозной форме тимуса. Учитывая наличие кальциноза и профессию пациентки, не исключалась возможность гидатидной кисты средостения, что и подтвердилось при оперативном удалении кисты.

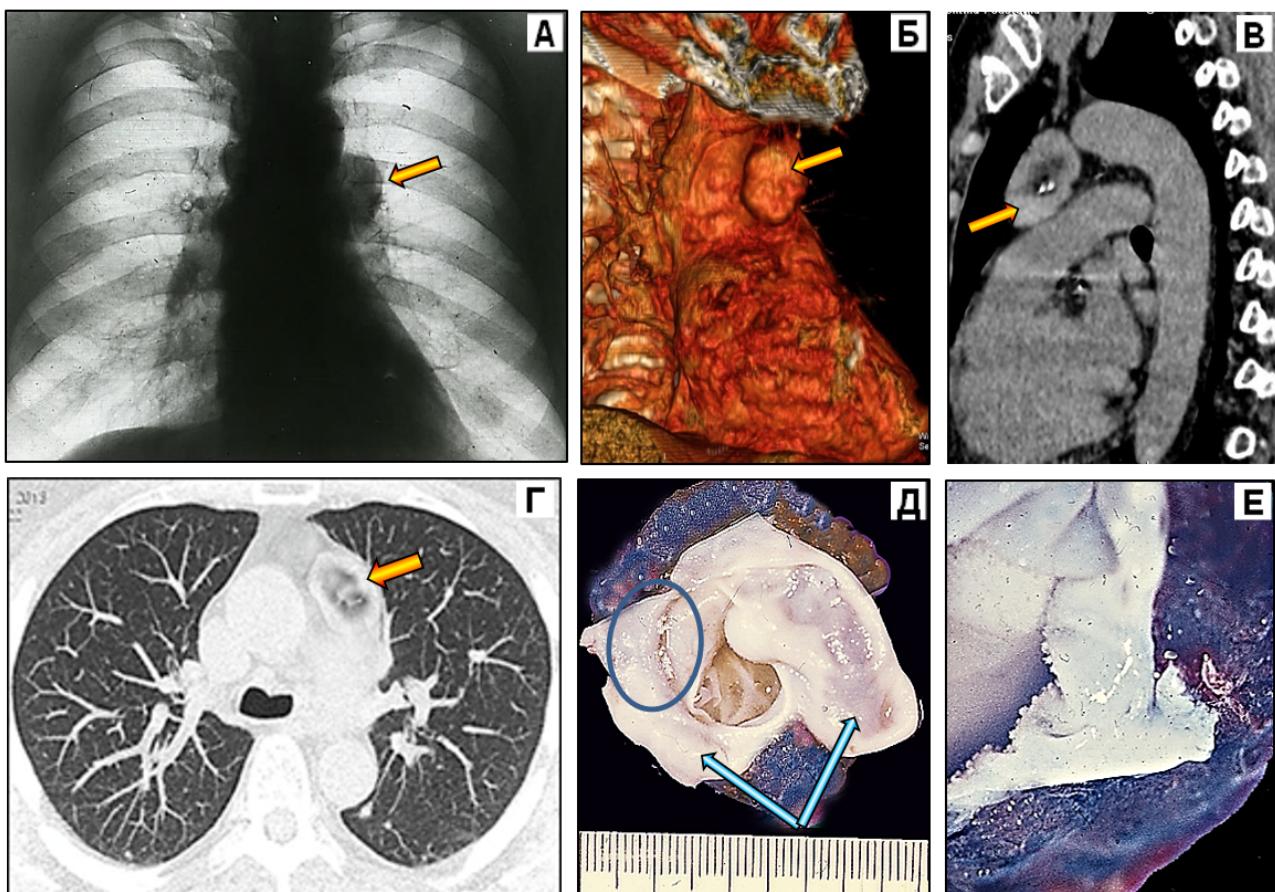


Рис. 9. Больная З., 34 года – гидатидная киста средостения. (А) – рентгенограмма ОГК во фронтальной проекции. (Б) – МСКТ, объёмный рендеринг в правой косой проекции. (В) –МПР в левой боковой проекции, мягкотканное электронное окно. (Г) – аксиальная проекция (МИР реконструкция «проекция максимальной интенсивности»). (Д) – макропрепаратор резецированной гидатидной кисты – хитиновая со стороны внутренней (зародышевой) оболочки обозначена синими стрелками, участок кальциноза – кольцевидной меткой. (Е) – макропрепаратор, увеличенный фрагмент – визуализация вторичного микрокистоза.

Презентация IX. Изолированная аневризма левой подключичной артерии.

Изолированная аневризма левой подключичной артерии (АЛПА) представляет значительную хирургическую проблему, поскольку затрагивает сосуды, кровоснабжающие голову, шею и верхние конечности. Обнаруженная в связи с атеросклерозом АЛПА часто остается клинически бессимптомной и осложняется церебральным повреждением и катастрофическими сосудистыми событиями. Чтобы избежать высокой заболеваемости и смертности, связанных с опасными для жизни осложнениями этого состояния, его необходимо своевременно диагностировать, контролировать и лечить.

Истинная аневризма определяется как патологическое расширение сегмента кровеносного сосуда, вовлекающее все три слоя стенки сосуда (интима, среда и адвенциция) и имеющее увеличение диаметра не менее чем на 50% по сравнению с ожидаемым нормальным диаметром сосуда.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Больная Ю., 24 года. Жалоб не предъявляет. Патология в средостении обнаружена случайно при флюорографии по месту жительства. Направлена на консультацию в ДНЦ ФПД.

Выполнена МСКТ. Слева в верхнем этаже висцерального отдела средостения выявлено округлое образование с чёткими контурами, однородной структуры,

КТ-плотностью 30-35 HU. По данным МСКТ-исследования на тот период времени, выявленные изменения ошибочно нами трактовались, как кистозная форма тимомы.

На этапе оперативного лечения (рис. 10В) неожиданно выяснилось, что имеет место АЛПА. В ходе операции палатным аппаратом была сделана подтверждавшая это ангиопульмонография (рис. 10Г).

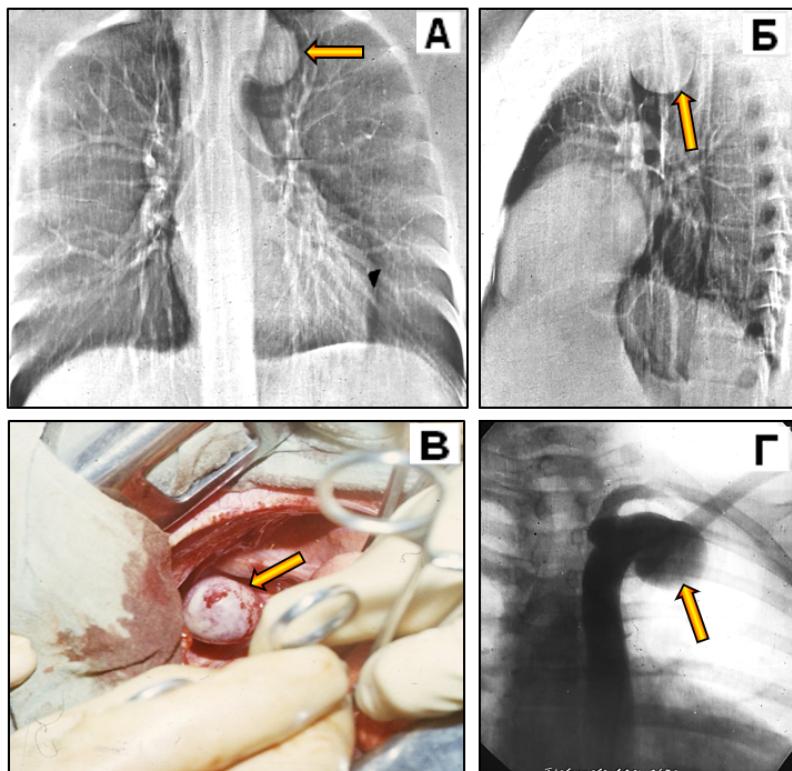


Рис. 10. Больная Ю., 24 года. Изолированная АЛПА. МСКТ. (А) – МПР ОГК во фронтальной проекции. (Б) – МПР в левой боковой проекции. (В) – операционное поле. Изолированная аневризма (стрелка) левой подключичной артерии. (Г) – селективная ангиопульмография.

Представленная презентация свидетельствует о том, что вариантов для успешной предоперационной дифференциальной диагностики существует великое множество, при этом выбор нужного обеспечивается профессиональной информированностью (знакомство с проблемой) специалиста высокой квалификации.

Презентация X. Ахалазия пищевода.

Ахалазия пищевода анатомически, по сути, полостное (кистоподобное) образование на протяжении, заполненное вследствие нераскрытия кардии при глотании разнообразным пищевым содержимым. Поскольку на обзорных рентгенограммах и флюорограммах ахалазия пищевода проявляется синдромом расширения срединной тени, то с некоторой долей вероятности следует рассматривать это заболевание в рубрикации дифференциальной диагностики с лимфаденопатией. Ахалазия – редкое заболевание, при котором поврежденные нервы в пищеводе не позволяют

ему работать должным образом. Мышцы в нижней части пищевода не пропускают пищу в желудок. Симптомы включают проблемы с глотанием, изжогу и боль в груди. Лечение включает как нехирургические (инъекции ботокса, баллонная дилатация, лекарства), так и хирургические варианты.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Больная Ж., 64 года. При рентгенографии по месту жительства заподозрена болезнь Ходжкина. Больная предъявляет жалобы на проблемы с глотанием (дисфагию), срыгивание непереваренной пищей, периодическую боль в груди, изжогу, кашель ночью, потерю веса/недоедание из-за трудностей с приемом пищи. При эзофагоскопии сделано заключение о рефлюкс-эзофагите. Направлена на консультацию в ДНЦ ФПД. Выполнена МСКТ – диффузное, стойкое расширение просвета пищевода, на всем его протяжении, характерное для ахалазии пищевода (рис. 11).

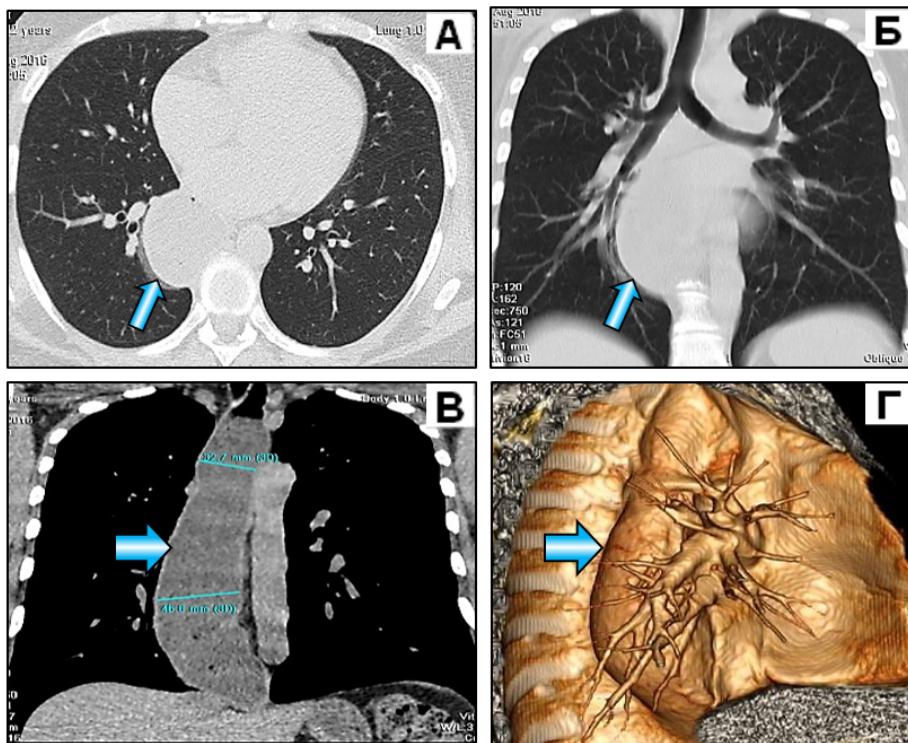


Рис. 11. Больная Ж., 64 года. Ахалазия пищевода. МСКТ. (А) – аксиальная проекция, лёгочное электронное окно. (Б) – МПР во фронтальной проекции, лёгочное электронное окно. (В) – МПР во фронтальной проекции, инфильтративное электронное окно. Демонстрация тотального расширение пищевода с измерительными линиями. Диаметр верхней трети пищевода 38,7 мм, нижней трети – 46,8 мм. В просвете – застойное недифференцируемое пищевое содержимое пищевода. (Г) – объёмный рендеринг в правой косой проекции – пищевод обозначен широкой стрелкой.

Презентация XI. Грыжа пищеводного отверстия диафрагмы.

Объёмное полостное образование с локализацией в кардиодиафрагмальном углу слева, сформированное грыжевым выпячиванием при грыже пищеводного отверстия диафрагмы (ГПОД), которое «неожиданно» может быть обнаружено при КТ органов грудной клетки, например, с целью диагностики различных заболеваний, зачастую, без непосредственного контакта врача-рентгенолога с пациентом. В медицинской практике ГПОД часто обнаруживают во время обследования или процедуры для определения причины кашля, изжоги, боли в груди или верхней части живота. Форматирование адекватного протокола КТ-обследования может быть достигнуто при использовании постпроцессинговой обработки первичных аксиальных изображений, например, МПР в различных проекциях. Это находит убедительное подтверждение при демонстрации нашего собственного наблюдения МСКТ-диагностики сопутствующей ГПОД.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Больная Ф., 41 год. После проведённого МСКТ-обследования, выполненного с целью уточняющей диагностики формы туберкулёза лёгких, с выявленными дополнительными изменениями в средостении (ГПОД), пациентка была приглашена на приём для уточнения анамнестических данных.

На момент обследования больная предъявляет ряд жалоб: ощущение жжения в груди (изжога), обычно

после еды, которое усиливается ночью или в положении лежа; регургитация пищи или кислой жидкости; периодические боли в верхней части живота или груди; нередко бывает дисфагия и чувство комка в горле (даные симптомы характерны для ГПОД). Считает себя больной в течение 10 лет. Периодически лечится в профильном стационаре.

При МСКТ ОГК (рис. 12) выявлена ГПОД, укороченный пищевод и частичный «грудной желудок». Данная презентация подчёркивает необходимость тщательно обследования «закулисной» патологии при любом МСКТ-обследовании ОГК, впрочем, как и любого другого органа. Постпроцессинговая обработка аксиальных изображений (МПР) существенно обогащает визуальную информацию при МСКТ-исследовании.

Презентация XII. Ценкеровский дивертикул пищевода.

Дивертикул Ценкера, глоточный мешок, представляет собой выпячивание слизистой оболочки глотки человека, чуть выше перстнеглоточной мышцы (т.е., над верхним сфинктером пищевода). Это псевододивертикул (не вовлекающий все слои стенки пищевода). Данная патология названа в 1877 году в честь немецкого патологоанатома Фридриха Альберта фон Ценкера.

Дивертикул Ценкера в основном поражает пожилых людей. Заболеваемость составляет 2 случая на 100 тыс. человек в год [34, 35].

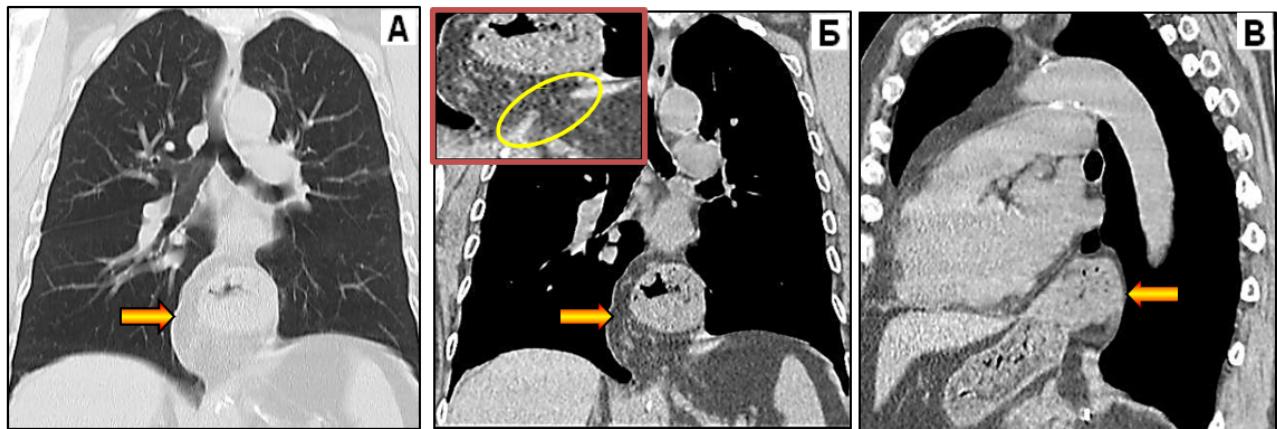


Рис. 12. Больная Ф., 41 год. Грыжа пищеводного отверстия диафрагмы («грудной желудок»), МСКТ. (А) – МПР во фронтальной проекции, лёгочное электронное окно. (Б) – МПР во фронтальной проекции, мягкотканное электронное окно, увеличенный фрагмент грыжевых ворот (кольцевая метка). (В) – МПР в левой боковой проекции, мягкотканное электронное окно. Грыжевым содержимым является: кардия и дно желудка с желудочным содержимым. Отмечается отсутствие абдоминального отдела пищевода и укорочение грудного его отдела – «грудной желудок».

Хотя дивертикул Ценкера может протекать бессимптомно, он может проявляться следующими симптомами: дисфагия, ощущение кома в горле; пища может попасть в выпячивание, что приведет к срыгиванию (повторное появление проглоченной пищи в рту); кашель из-за срыгивания пищи в дыхательные пути; зловонный запах изо рта, так как застоявшаяся пища переваривается микроорганизмами.

Собственное клинико-рентгенологическое наблюдение.

Больной Ж., 62 года. Жалобы на периодическую дисфагию, изжогу.

При МСКТ шеи (рис. 13) в месте перехода в средостение определяется овальной формы кистозное образование с чёткими контурами (А) и неоднородной структурой (пищевое содержимое). 2/3 объёма образования располагается в заднем средостении.

Выполнено рентгенологическое исследование с бариевой взвесью (Б и В). В области перехода глотки в пищевод определяется выпячивание, компрессирующее левую переднюю стенку пищевода (Б), в просвете дивертикула визуализируются дефекты наполнения, обусловленные пищевыми комками (В).

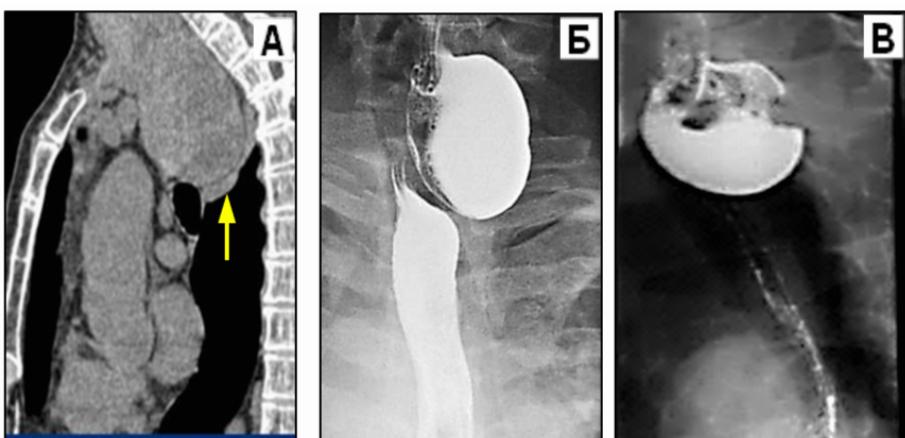


Рис. 13. Больной Ж., 62 года. Ценкеровский дивертикул пищевода (А) – МСКТ, МПР в левой боковой проекции. Визуализируется овальное образование жидкостной плотности с локализацией в верхнем этаже заднего средостения (стрелка). (Б) – рентгенограмма ОГК в левой косой проекции и (В) – рентгенограмма ОГК в левой боковой проекции с пероральным контрастированием бариевой взвесью.

Таким образом, Ценкеровский дивертикул формирует образ медиастинального кистоподобного образования, создающего масс-эффект. Содружественное МСКТ и рентгенологическое исследование дополняют друг друга. Рентгенологическое исследование обогащает информацию за счёт функциональной составляющей.

Выводы

В данной публикации мы презентовали собственные клинические наблюдения, которые представляют в основном визуализационные методы диагностики полостных (кистозных и кистоподобных) образований средостения. Многие из этих заболеваний представляют большую редкость и поэтому демонстрация кон-

крайней патологии распределена по времени. Каждый блок презентации для убедительности восприятия информации представляет собой комплекс методов визуализации, несущих свою долю полезной информации, а вместе они представляют неоспоримую ценность.

Ряд представленных в нашей работе заболеваний, таких как ахалазия пищевода, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы, дивертикул Ценкера, аневризма подключичной артерии, не имеют прямого отношения к кистам с патоморфологической точки зрения, но с уверенностью их можно отнести к кистоподобным полостным анатомическим структурам, которые требуют творческого подхода к подбору дифференциально-диагностических тестов.

Подавляющее число представленных наблюдений по-новому раскрывают возможности в диагностике междиастинальной патологии. Имеется в виду применение многодетекторной (мультиспиральной) компьютерной

томографии (МСКТ) с постобработкой первичных аксиальных изображений. Нераспознаваемая рутинными методами патология при использовании МСКТ становится легкодоступной для анализа, что в дальнейшем ведет к правильной постановке диагноза и адекватной тактике.

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

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Пищик В.Г. Новообразования средостения: принципы дифференциальной диагностики и хирургического лечения: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2008. 41 с.
2. Mlika M., Abdennadher M., Ayadi R., Braham E., Ismail O., Marghli A., Mezni F. Mediastinal cysts: a 52-case retrospective study // Tunis. Med. 2022. Vol.100, Iss.1. P.44–48. PMCID: PMC9006788.
3. Полоцкий Б.Е., Мачаладзе З.О., Давыдов М.И., Малаев С.Г., Карселадзе А.И., Савёлов Н.А. Новообразования вилочковой железы (обзор литературы) // Сибирский онкологический журнал. 2008. №1(25). С.75–84. EDN: IJULKB.
4. Yano M., Numanami H., Akiyama T., Taguchi R., Furuta C., Iwakoshi A., Haniuda M. Thoracoscopic thymectomy for large thymic cyst: myasthenia gravis with thymoma concealed by thymic cyst // Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech. 2019. Vol.29, Iss.3. P.e34–e36. <https://doi.org/10.1097/SLE.0000000000000641>
5. Wang X., Li Y., Chen K., Yang F., Wang J. Clinical characteristics and management of primary mediastinal cysts: A single-center experience // Thorac. Cancer. 2020. Vol.11, Iss.9. P.2449–2456. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13555>
6. Marom E.M. Advances in thymoma imaging // J. Thorac. Imaging. 2013. Vol.28, Iss.2. P.69–80. <https://doi.org/10.1097/RTI.0b013e31828609a0>
7. Shahrzad M., Le T.S.M., Silva M., Bankier A.A., Eisenberg R.L. Anterior mediastinal masses // Am. J. Roentgenol. 2014. Vol.203, Iss.2. P.128–138. <https://doi.org/10.2214/AJR.13.11998>
8. Vargas D., Suby-Long T., Restrepo C.S. Cystic lesions of the mediastinum // Semin. Ultrasound CT MR. 2016. Vol.37, Iss.3. P.212–222. <https://doi.org/10.1053/j.sult.2015.12.005>
9. Damaskos C., Garmpis N., Garmpis A., Georgakopoulou V.E., Tomos P. Multilocular thymic cyst in a young, otherwise healthy woman: a case report // Cureus. 2020. Vol.12, Iss.10. Article number: e11210. doi: 10.7759/cureus.11210
10. Gupta M., Lovelace T.D., Sukumar M., Gosselin M.V. Cervical thoracic duct cyst // J. Thorac. Imaging. 2005. Vol.20, Iss.2. P.107–109. <https://doi.org/10.1097/01.rti.0000148208.74252.84>.
11. Пикин О.В., Рябов А.Б., Глушко В.А., Колбанов К.И., Вурсол Д.А., Александров О.А. Лимфатическая мальформация шейно-надключичной области с медиастинальным компонентом больших размеров // Хирургия. Журнал им. Н.И.Пирогова. 2018. №12. С.132–135. EDN: YQXXRZ. <https://doi.org/10.17116/hirurgia2018121132>
12. Платов И.И., Паршин В.Д. О бронхогенных кистах легких и средостения // Consilium Medicum. 2010. Т.12, №8. С.87–91. EDN: RBOEVH.
13. Limaïem F., Ayadi-Kaddour A., Djilani H., Kilani T., El Mezni F. Pulmonary and mediastinal bronchogenic cysts: a clinicopathologic study of 33 cases // Lung. 2008. Vol.186, Iss.1. P.55–61. <https://doi.org/10.1007/s00408-007-9056-4>
14. Ali S., Rauf A., Meng L.B., Sattar Z., Hussain S., Majeed U. Case Report: Severe back pain, epigastric distress and refractory nausea; an unusual presentation of mediastinal bronchogenic cyst // F1000Res. 2018. Vol. 7. Article number: 960. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15128.1>
15. Дубова Е.А., Щеголев, А.И., Степанова Ю.А., Кармазановский Г.Г. Кишечная дупликационная киста // Медицинская визуализация. 2009. №5. С.19–27. EDN: KZGJRR.
16. Strollo D.C., Rosado-de-Christenson M.L., Jett J.R. Primary mediastinal tumors. Part 1. Tumors of the anterior mediastinum // Chest. 1997. Vol.112, Iss.2. P.511–522. <https://doi.org/10.1378/chest.112.2.511>.
17. Медведева С.В., Заболотских Т.В., Данилова Н.Б. Дермоидная киста переднего средостения // Доктор.Ру.

2019. №9(164). С.34–36. EDN: FZXYFC. <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-164-9-34-36>
18. Rosado-de-Christenson M.L., Templeton P.A., Moran C.A. From the archives of the AFIP. Mediastinal germ cell tumors: radiologic and pathologic correlation // RadioGraphics. 1992. Vol.12, Iss.5. P.1013–1030. <https://doi.org/10.1148/radiographics.12.5.1326777>
19. Moeller K.H., Rosado-de-Christenson M.L., Templeton P.A. Mediastinal mature teratoma: imaging features // Am. J. Roentgenol. 1997. Vol.169, Iss.4. P.985–990. <https://doi.org/10.2214/ajr.169.4.9308448>
20. Tecce P.M., Fishman E.K., Kuhlman J.E. CT evaluation of the anterior mediastinum: spectrum of disease // RadioGraphics. 1994. Vol.14, Iss.5. P.973–990. <https://doi.org/10.1148/radiographics.14.5.7991827>
21. Fulcher A.S., Proto A.V., Jolles H. Cystic teratoma of the mediastinum: demonstration of fat/fluid level // Am. J. Roentgenol. 1990. Vol.154, Iss.2. P.259–260. <https://doi.org/10.2214/ajr.154.2.2105009>
22. Платов И.И. Эхинококкоз сердца и перикарда // Справочник поликлинического врача. 2012. №12. С.46–49. EDN: TANXDV.
23. Зубрицкий В.Ф., Токин С.А., Агеев А.Г., Кипренский А.Ю., Кипренский Ю.В., Колесникова А.Г., Арефьев М.Н. Диагностика и хирургическое лечение кист и первичных опухолей перикарда и средостения // Медицинский вестник МВД. 2014. №1(68). С.8–13. EDN: RTVUWF.
24. Сушко А.А., Могилевец Э.В., Салмин Р.М., Калач А.Г. Сочетание нейрофибромы верхнего средостения с кистой перикарда // Новости хирургии. 2018. Т.26, №6. С.758–764. EDN: YWXLIT. <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2018.6.758>
25. Сафонов Д.В., Павлунин А.В., Сафонова Т.Д., Муртазалиева М.С. Ультразвуковая дифференциальная диагностика патологии правого кардиодиафрагмального угла // Практическая медицина. 2014. №3(79). С.143–148. EDN: SKAXDP
26. Davis R.D., Oldham H.N., Sabiston D.C. Primary cysts and neoplasms of the mediastinum: recent changes in clinical presentation, methods of diagnosis, management, and results // Ann. Thorac. Surg. 1987. Vol.44, Iss.3. P.229–237. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(10\)62059-0](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(10)62059-0)
27. Lennon Collins K., Zakhariou F., Mandal A.K.J., Missouris C.G. Pericardial cyst: never too late to diagnose // J. Clin. Med. 2018. Vol.7, Iss.11. Article number: 399. <https://doi.org/10.3390/jcm7110399>
28. Stoller J.K., Shaw C., Matthay R.A. Enlarging, atypically located pericardial cyst. Recent experience and literature review // Chest. 1986. Vol.89, Iss.3. P.402–406. <https://doi.org/10.1378/chest.89.3.402>
29. Лежнев Д.А., Михеев Н.Н., Жарикова М.В. Эхинококковая киста правого предсердия (клиническое наблюдение) // Радиология-практика. 2020. №3(81). С.75–79. EDN: BPPTWF.
30. Абдуфатоев Т.А., Давлятов С.Б., Ибодов Х.И. Диагностика и тактика лечения эхинококкоза сердца и перикарда у детей // Детская хирургия. 2010. №6. С.22–26. EDN: NBNJAX.
31. Eroğlu A., Kürkçüoğlu C., Karaoğlanoğlu N., Tekinbaş C., Kaynar H., Onbaşı O. Primary hydatid cysts of the mediastinum // Eur. J. Cardiothorac. Surg. 2002. Vol.22, Iss.4. P.599–601. [https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(02\)00398-6](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(02)00398-6)
32. Martí-Bonmatí L., Touza R., Montes H. CT diagnosis of primary mediastinal hydatid cyst rupture into the aorta: a case report // Cardiovasc. Intervent. Radiol. 1988. Vol.11, Iss.5. P.296–299. <https://doi.org/10.1007/BF02577040>
33. Ranganadham P., Dinakar I., Sundaram C., Ratnakar K.S., Vivekananda T. Posterior mediastinal paravertebral hydatid cyst presenting as spinal compression // Clin. Neurol. Neurosurg. 1990. Vol.92, Iss.2. P.149–151. [https://doi.org/10.1016/0303-8467\(90\)90091-i](https://doi.org/10.1016/0303-8467(90)90091-i)
34. Бобылев Д.А. Возможности рентгеноскопии и компьютерной томографии в диагностике дивертикулов Ценкера // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2012. Т.2, №2. С.150. EDN: OQJEEH.
35. Абдураимов А.Б., Павлов М.В., Афанасьев А.Б., Михайлова З.Ф. Дивертикул Ценкера у пожилых пациентов // Клиническая геронтология. 2019. Т.25, №1-2. С.62–68. EDN: YXZOAH. <https://doi.org/10.26347/1607-2499201901-02062-068>

REFERENCES

1. Pishchik V.G. [Neoplasms of the mediastinum: assessment of differential diagnosis and surgical treatment: abstract of PhD (Med) thesis]. Saint-Petersburg; 2008 (in Russian).
2. Mlika M., Abdennadher M., Ayadi R., Braham E., Ismail O., Marghli A., Mezni F. Mediastinal cysts: a 52-case retrospective study. *Tunis. Med.* 2022; 100(1):44–48. PMCID: PMC9006788
3. Polotsky B.E., Machaladze Z.O., Davydov M.I., Malaev S.G., Karseladze A.I., Savelov N.A. [Thymus gland neoplasms (literature review)]. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal = Siberian Journal of Oncology* 2008; (1):75–84 (in Russian).
4. Yano M., Numanami H., Akiyama T., Taguchi R., Furuta C., Iwakoshi A., Haniuda M. Thoracoscopic thymectomy for large thymic cyst: myasthenia gravis with thymoma concealed by thymic cyst. *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* 2019; 29(3): e34–e36. <https://doi.org/10.1097/SLE.0000000000000641>
5. Wang X., Li Y., Chen K., Yang F., Wang J. Clinical characteristics and management of primary mediastinal cysts: a single-center experience. *Thorac. Cancer* 2020; 11(9):2449–2456. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13555>

6. Marom EM. Advances in thymoma imaging. *J. Thorac. Imaging* 2013; 28(2):69–80. <https://doi.org/10.1097/RTI.0b013e31828609a0>
7. Shahrzad M., Le T.S.M., Silva M., Bankier A.A., Eisenberg R.L. Anterior mediastinal masses. *Am. J. Roentgenol.* 2014; 203(2):128–138. <https://doi.org/10.2214/AJR.13.11998>
8. Vargas D., Suby-Long T., Restrepo C.S. Cystic lesions of the mediastinum. *Semin. Ultrasound CT MR* 2016; 37(3):212–222. <https://doi.org/10.1053/j.sult.2015.12.005>
9. Damaskos C., Garpis N., Garpis A., Georgakopoulou V.E., Tomos P. Multilocular thymic cyst in a young, otherwise healthy woman: a case report. *Cureus* 2020; 12(10):e11210. <https://doi.org/10.7759/cureus.11210>
10. Gupta M., Lovelace T.D., Sukumar M., Gosselin M.V. Cervical thoracic duct cyst. *J. Thorac. Imaging* 2005; 20(2):107–109. <https://doi.org/10.1097/01.rti.0000148208.74252.84>.
11. Pikin O.V., Ryabov A.B., Glushko V.A., Kolbanov K.I., Vursol D.A., Aleksandrov O.A. [Lymphatic malformation of cervical-supraclavicular area with large mediastinal component]. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova = Pirogov Russian Journal of Surgery* 2018; (12):132–135 (in Russian). <https://doi.org/10.17116/hirurgia2018121132>
12. Platov I.I., Parshin V.D. [About bronchogenic cysts of the lung and mediastinum]. *Consilium Medicum* 2010; 12(8):87–91 (in Russian).
13. Limaïem F., Ayadi-Kaddour A., Djilani H., Kilani T., El Mezni F. Pulmonary and mediastinal bronchogenic cysts: a clinicopathologic study of 33 cases. *Lung* 2008; 186(1):55–61. <https://doi.org/10.1007/s00408-007-9056-4>
14. Ali S., Rauf A., Meng L.B., Sattar Z., Hussain S., Majeed U. Case report: severe back pain, epigastric distress and refractory nausea; an unusual presentation of mediastinal bronchogenic cyst. *F1000Res.* 2018; 7:960. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15128.1>
15. Dubova E.A., Shchegolev, A.I., Stepanova Ju.A., Karmazanovsky G.G. [Intestinal duplication cyst]. *Meditinskaya vizualizatsiya = Medical Visualization* 2009; (5):19–27 (in Russian).
16. Strollo D.C., Rosado-de-Christenson M.L., Jett J.R. Primary mediastinal tumors. Part 1. Tumors of the anterior mediastinum. *Chest* 1997; 112(2):511–522. <https://doi.org/10.1378/chest.112.2.511>
17. Medvedeva S.V., Zabolotskikh T.V., Danilova N.B. [An anterior mediastinal dermoid cyst in a pediatric patient]. *Doctor.Ru* 2019; (9):34–36 (in Russian). <https://doi.org/10.31550/1727-2378-2019-164-9-34-36>
18. Rosado-de-Christenson M.L., Templeton P.A., Moran C.A. From the archives of the AFIP. Mediastinal germ cell tumors: radiologic and pathologic correlation. *RadioGraphics* 1992; 12(5):1013–1030. <https://doi.org/10.1148/radiographics.12.5.1326777>
19. Moeller K.H., Rosado-de-Christenson M.L., Templeton P.A. Mediastinal mature teratoma: imaging features. *Am. J. Roentgenol.* 1997; 169(4):985–990. <https://doi.org/10.2214/ajr.169.4.9308448>
20. Tecce P.M., Fishman E.K., Kuhlman J.E. CT evaluation of the anterior mediastinum: spectrum of disease. *RadioGraphics* 1994; 14(5):973–990. <https://doi.org/10.1148/radiographics.14.5.7991827>
21. Fulcher A.S., Proto A.V., Jolles H. Cystic teratoma of the mediastinum: demonstration of fat/fluid level. *Am. J. Roentgenol.* 1990; 154(2):259–260. <https://doi.org/10.2214/ajr.154.2.2105009>
22. Platov I.I. [Echinococcosis of the heart and pericardium]. *Spravochnik poliklinicheskogo vracha* 2012; (12):46–49 (in Russian).
23. Zubritskiy V.F., Tokin S.A., Ageev A.G., Kiprenskiy A.Yu., Kiprenskiy Yu.V., Kolesnikova A.G., Aref'ev M.N. [Diagnosis and surgical treatment of cysts and primary tumors of pericardium and mediastinum]. *Meditinskii vestnik MVD* 2014; (1):8–13 (in Russian).
24. Sushko A.A., Mogilevets E.V., Salmin R.M., Kalach A.G. [Combination of superior mediastinal neurofibroma and pericardial cyst]. *Novosti khirurgii = Surgery News* 2018; 26(6):758–764 (in Russian). <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2018.6.758>
25. Safonov D.V., Pavlunin A.V., Safonova T.D., Murtazalieva M.S. [Ultrasonic differential diagnosis of pathology of the right cardiodiaphragmatic angle]. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine* 2014; (3):143–148 (in Russian).
26. Davis R.D., Oldham H.N., Sabiston D.C. Primary cysts and neoplasms of the mediastinum: recent changes in clinical presentation, methods of diagnosis, management, and results. *Ann. Thorac. Surg.* 1987; 44(3):229–237. [https://doi.org/10.1016/s0003-4975\(10\)62059-0](https://doi.org/10.1016/s0003-4975(10)62059-0)
27. Lennon Collins K., Zakhariou F., Mandal A.K.J., Missouris C.G. Pericardial cyst: never too late to diagnose. *J. Clin. Med.* 2018; 7(11):399. <https://doi.org/10.3390/jcm7110399>
28. Stoller J.K., Shaw C., Matthay R.A. Enlarging, atypically located pericardial cyst. Recent experience and literature review. *Chest* 1986; 89(3):402–406. <https://doi.org/10.1378/chest.89.3.402>
29. Lezhnev D.A., Mikheev N.N., Zharikova M.V. [Echinococcus cyst of the right atrium (clinical observation)]. *Radiologiya-praktika = Radiology-Practice* 2020; (3):75–79 (in Russian).
30. Abdufatoev T.A., Davlyatov S.B., Ibodov Kh.I. [Diagnostics and tactics of treatment of echinococcosis of the heart and pericardium in children]. *Russian Journal of Pediatric Surgery (Detskaya Khirurgiya)* 2010; (6):22–26 (in Russian).
31. Eroğlu A., Kürkçüoğlu C., Karaoğlanoğlu N., Tekinbaş C., Kaynar H., Onbaş O. Primary hydatid cysts of the me-

- diastinum. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2002; 22(4):599–601. [https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(02\)00398-6](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(02)00398-6)
32. Martí-Bonmatí L., Touza R., Montes H. CT diagnosis of primary mediastinal hydatid cyst rupture into the aorta: a case report. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 1988; 11(5):296–299. <https://doi.org/10.1007/BF02577040>
33. Ranganadham P., Dinakar I., Sundaram C., Ratnakar K.S., Vivekananda T. Posterior mediastinal paravertebral hydatid cyst presenting as spinal compression. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 1990; 92(2):149–151. [https://doi.org/10.1016/0303-8467\(90\)90091-i](https://doi.org/10.1016/0303-8467(90)90091-i)
34. Bobylev D.A. [Possibilities of fluoroscopy and computed tomography in the diagnosis of Zenker's diverticula]. *Byulleten' meditsinskikh internet-konferentsiy = Bulletin of Medical Internet Conferences* 2012; 2(2):150 (in Russian).
35. Abduraimov A.B., Pavlov M.V., Afanasiev A.B., Mikhailova Z.F. [Zenker's diverticulum in elderly patients]. *Klinicheskaya gerontologiya = Clinical Gerontology* 2019; 25(1-2):62–68 (in Russian). <https://doi.org/10.26347/1607-2499201901-02062-068>

Информация об авторах:

Анатолий Васильевич Леншин, д-р мед. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, врач-рентгенолог отделения лучевой диагностики, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: lenshin42@mail.ru

Юлий Михайлович Перельман, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. лабораторией функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: jperelman@mail.ru

Андрей Валерьевич Ильин, канд. мед. наук, зав. отделением лучевой диагностики, врач-рентгенолог, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: alero82@yandex.ru

Алексей Валерьевич Побережский, врач-рентгенолог, главный врач, Государственное автономное учреждение здравоохранения Амурской области «Амурский областной онкологический диспансер»; e-mail: onko2@bk.ru

Елена Александровна Игнатьева, врач-рентгенолог отделения лучевой диагностики, аспирант лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ignatyevalena6618@gmail.com

Сергей Александрович Крайнов, врач-рентгенолог, отделение лучевой диагностики, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Author information:

Anatoliy V. Lenshin, MD, PhD, DSc (Med.), Professor, Roentgenologist, Leading Staff Scientist of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: lenshin42@mail.ru

Julij M. Perelman, MD, PhD, DSc (Med.), Corresponding member of RAS, Professor, Deputy Director on Scientific Work, Head of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: jperelman@mail.ru

Andrey V. Il'in, MD, PhD (Med.), Roentgenologist, Head of Department of X-Ray Diagnostics, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: alero82@yandex.ru

Aleksey V. Poberezhskiy, MD, Roentgenologist, Chief Medical Officer of the Amur Regional Oncological Dispensary; e-mail: onko2@bk.ru

Elena A. Ignat'eva, MD, Roentgenologist of Department of X-Ray Diagnostics, Postgraduate Student of the Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ignatyevalena6618@gmail.com

Sergey A. Kraynov, MD, Roentgenologist of Department of X-Ray Diagnostics of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Поступила 18.11.2022
Принята к печати 30.11.2022

Received November 18, 2022
Accepted November 30, 2022

УДК "COVID-19":616-055.1/.:2612.018:57.015.3

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-120-128

РОЛЬ ЭСТРОГЕНОВ В ТЕЧЕНИИ И ИСХОДАХ COVID-19 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ БОЛЬНЫХ

И.В.Довжикова, И.А.Андреевская, К.С.Лязгиян

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Во время пандемии COVID-19 были обнаружены половые различия в клиническом течении и исходах заболевания. **Цель.** Обобщение сведений о механизмах, лежащих в основе половых различий при COVID-19 с акцентом на роль эстрогенов. **Материалы и методы.** Проведено исследование с использованием различных баз данных до сентября 2022 года по ключевым словам «эстрогены» и «COVID-19». Все статьи были опубликованы на английском языке. **Результаты.** В обзоре обсуждено участие эстрогенов в реализации иммунного ответа при вирусной инфекции. Отдельные разделы статьи посвящены влиянию женских половых гормонов на коагуляцию, воспалительные процессы и ренин-ангиотензиновую систему. **Заключение.** В конце работы делается вывод о большом потенциале будущих исследований по расшифровке влияния гормонов на физиологию человека для объяснения гетерогенности патогенных реакций человека и планирования стратегии лечения вирусных инфекций.

Ключевые слова: COVID-19, эстрогены, половые различия.

COVID-19 AND SEX DIFFERENCES: ROLE OF ESTROGEN

I.V.Dovzhikova, I.A.Andrievskaya, K.S.Lyazgiyan

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

SUMMARY. Introduction. Sex differences in the course and outcomes of the disease were found during the COVID-19 pandemic. **Aim.** To summarize the knowledge about the mechanisms underlying sex differences in COVID-19, with a focus on the role of estrogen. **Materials and methods.** We conducted a study using various databases until September 2022 for the keywords “estrogen” and “COVID-19”. All articles were published in English. **Results.** The review discusses the involvement of estrogen in the implementation of the immune response in viral infection. Individual paragraphs of the article are devoted to the effect of female sex hormones on coagulation, inflammation, and the renin-angiotensin system. **Conclusion.** At the end of the paper, it is concluded that there is great potential for future work deciphering hormonal effects on human physiology to explain the heterogeneity in pathogenic responses and may facilitate the development of more effective and personalized interventions.

Key words: COVID-19, estrogens, sex differences.

Коронавирусная инфекция (COVID-19) вызывается новым коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2). Мужчины и женщины были одинаково подвержены риску заражения, однако, у первых, независимо от возраста, чаще развивалась тяжелая форма болезни [1, 2]. Кроме этого, официальные источники сообщают, что, несмотря на одинако-

вый процент подтвержденных случаев заболевания среди мужчин и женщин, на каждые 15 удостоверенных случаев смерти от COVID-19 мужчин приходится только 10 среди женщин [2, 3]. Эти данные говорят о важности учёта пола в исследованиях для борьбы с пандемией SARS-CoV-2. Факторы, опосредующие восприимчивость к SARS-CoV-2, его передачу, течение и

Контактная информация

Инна Викторовна Довжикова, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dov_kova100@rambler.ru

Correspondence should be addressed to

Inna V. Dovzhikova, PhD, DSc (Biol.), Leading Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: dov_kova100@rambler.ru

Для цитирования:

Довжикова И.В., Андреевская И.А., Лязгиян К.С. Роль эстрогенов в течении и исходах COVID-19 в зависимости от половой принадлежности больных // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.120–128. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-120-128

For citation:

Dovzhikova I.V., Andrievskaya I.A., Lyazgiyan K.S. COVID-19 and sex differences: role of estrogen. *Bületeren' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (86):120–128 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-120-128

исходы заболевания, все еще находятся в стадии изучения. Есть много способов, которыми пол может оказать влияние на статистику COVID-19. Они включают гендерно-специфические, такие как распространенность курения и других сопутствующих заболеваний, социальное поведение. Однако, на наш взгляд, данные факторы перекрываются биологическими различиями. Настоящий обзор будет посвящён рассмотрению некоторых из основных механизмов, лежащих в основе половых различий при COVID-19 с акцентом на регулирующем действии женских половых гормонов – эстрогенов.

Половые хромосомы

Одним из возможных объяснений преимущества женского пола в период пандемии COVID-19 является наличие двух X-хромосом, которые определяют не только половую детерминацию, но и количественную экспрессию функциональных генов. Несмотря на то, что одна из них является транскрипционно молчашей, некоторые гены избегают инактивации [4]. Как например, ген аngiotензинпревращающего фермента 2 (ACE2) – рецептора SARS-CoV-2 [4, 5]. Повышенная экспрессия ACE2 у женщин может уравновешивать давление фермента при коронавирусной инфекции и, следовательно, защищать от гиперактивности ренин-ангиотензиновой системы (RAS).

Кроме этого, женщины обычно имеют более сильный иммунный ответ, так как X-хромосома содержит большой набор генов, отвечающих за иммунитет [6, 7]. За связь с врожденным и адаптивным иммунитетом ответственны гены Toll-подобных рецепторов 7 и 8, а также гены, контролирующие активность В и Т клеток, включая FOXP3 и множество цитокинов [6, 8].

Кроме этого, большое значение для понимания различных последствий COVID-19 может иметь распределение полиморфизмов генов, функционально связанных с инфекцией SARS-CoV-2. Недавний полногеномный ассоциативный анализ позволил выявить гены, которые сегрегируют со смертностью от COVID-19 [9–11].

Генетические факторы играют важную роль в исходах COVID-19, а половые гормоны являются важными медиаторами этой генетической регуляции.

Эстрогены и их сигнальные механизмы

Эстрогены являются основными женскими половыми стероидами, необходимыми для полового развития и функционирования репродуктивной системы. Основой для их образования является холестерин, процесс синтеза осуществляется в три стадии [12]. Три основных эстрогена: эстрон, эстрадиол и эстриол производятся стероидогенными клетками яичника, плаценты, жировой ткани и так далее. Самой высокой эстрогенной активностью обладает эстрадиол.

Известно, что половые стероидные гормоны осуществляют свои клеточные и молекулярные эффекты

посредством геномной и негеномной активации ядерных и ассоциированных с мембраной рецепторов [13]. Эстрогены, связывающиеся со своими рецепторами (ER) в ядре для активирования или репрессирования специфических генов, действуют по классическому механизму. Эффекты эстрогенов, которые происходят слишком быстро, чтобы быть обусловленными активацией синтеза РНК и белка, считаются негеномными. Негеномный путь включает взаимодействие между эстрогенами и рецепторами, ассоциированными с плазматической мембраной, эндоплазматическим ретикулумом или ионными каналами, которое запускает внутриклеточные сигнальные каскады реакций. Существует множество дополнительных факторов, таких как пол, возраст, типы эффекторных клеток, характер экспрессии рецепторов, продолжительность воздействия и перекрестные помехи между половыми стероидами, которые влияют на передачу сигналов и общий результатирующий эффект [14–16].

Эстрогены и иммунитет

Хорошо известно, что существуют различия между полами в иммунных реакциях, причем у женщин врожденный и адаптивный иммунный ответ лучше, чем у мужчин. Такие расхождения являются результатом генетических и гормональных различий. Их хорошо иллюстрирует тот факт, что в промоторах генов иммунной системы находятся определенные последовательности нуклеотидов ДНК регуляторного участка генов-мишеней, называемые эстроген-чувствительными элементами (или элементы ответа на эстрогены) [17]. Эстрогены регулируют как врожденный, так и адаптивный ответ. Они могут модулировать дифференцировку, генетическое программирование и продолжительность жизни всех иммунных клеток, включая нейтрофилы, макрофаги, дендритные клетки и естественные киллеры, поскольку на всех этих клетках есть ER [18, 19].

Эффекты эстрогенов на врожденные иммунные ответы, которые опосредованы моноцитами и макрофагами, в значительной степени репрессивны. Они также подавляют цитотоксичность естественных киллеров [20, 21].

Одним из способов воздействия на адаптивный иммунитет является влияние эстрогенов на количество циркулирующих антител. Неоднократно демонстрировалась корреляция эстрогенов с повышенным уровнем антител, в том числе и после вакцинации [22, 23]. Антитела, вырабатываемые В-клетками, составляют лишь часть адаптивного иммунного ответа, другой тип клеток, ответственных за долговременный иммунитет представляют Т-клетки. Несмотря на то, что уровень экспрессии ER на Т-лимфоцитах ниже, чем на В-клетках, эстрогены оказывают сильное влияние на их развитие, пролиферацию и регуляцию [16, 22, 24]. Они ингибируют продукцию Th1-опосредованных провоспалительных цитокинов и стимулируют образование

Th2-опосредованных противовоспалительных цитокинов [25]. Таким образом, эстрогены способствуют развитию иммунного ответа типа 2, необходимого для элиминации вируса и восстановления поврежденных тканей [26].

Эстрогены и воспаление

COVID-19 связан с интенсивным воспалением и повышением уровней воспалительных биомаркеров и цитокинов. Сообщается, что мужчины с тяжелым течением заболевания имеют более высокую концентрацию С-реактивного белка, интерлейкина (IL) -2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-16, IL-18, TNF α , более высокую активацию провоспалительных хемокинов CCL14 и CCL23. У больных женского пола с COVID-19 отмечается более сильная активация Т-клеток [27–29]. Примечательно, что у женщин сильный иммунный ответ на вирусные инфекции сегрегирует с более скромным воспалительным ответом на COVID-19. Объясняют данный факт неэффективностью характерного для мужчин раннего противовирусного иммунитета, приводящей к гипервоспалительной реакции у пациентов мужского пола [22].

Эстрогены играют ключевую роль в регуляции воспаления, контролируя иммунные реакции во многих клетках. Однако, точная роль данных гормонов сложна. Ряд исследователей показывают, что они подавляют воспаление, другие – что способствуют продукции провоспалительных цитокинов. Влияние эстрогенов сильно варьирует в зависимости изучаемого типа клеток, цитокинов и от концентрации [15]. Высокие уровни эстрадиола могут ингибировать выработку провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-1, TNF α , CCL2), низкие – стимулировать их продукцию [16, 30].

Эстрогены оказывают противовоспалительное действие, предотвращая миграцию клеток врожденного иммунитета (особенно нейтрофилов и моноцитов) в область воспаления. Они стимулируют продукцию противовоспалительных цитокинов, например, IL-4, IL-10 и интерферона γ [31]. Экспериментально было обнаружено, что активированный receptor эстрогена- α ингибирует NF- κ B-опосредованный воспалительный ответ и выработку цитокинов в клетках иммунитета (лимфоцитах, макрофагах, нейтрофилах) [30]. Данные результаты могут лежать в основу развития стратегий лечения COVID-19, поскольку уровень гормонов можно скорректировать.

Эстрогены и коагуляция

Физиопатология COVID-19 характеризуется не только обострением воспалительной реакции, но и состоянием гиперкоагуляции. Риск тромбоэмболии у мужчин на протяжении всего жизненного цикла выше, чем у женщин. У женщин же отмечается постепенное увеличение риска во время менопаузы [29, 32, 33].

В настоящее время коагулопатия, связанная с COVID-19, рассматривается как тромбовоспаление,

поскольку она, по-видимому, является результатом не прямого действия вируса, а вторичного по отношению к вирусной инфекции системного воспаления, которому способствует эндотелиопатия и длительный застой [32]. Различные механизмы, включая действие половых гормонов, могут влиять на механизмы коагулопатии и тромбоза.

Половые гормоны непосредственно действуют на активацию тромбоцитов и каскад коагуляции [34]. Даные, собранные на животных-моделях, позволили предположить, что эстрогены снижают агрегационную способность тромбоцитов, тем самым защищая организм от тромбоза [35]. Показано, что эстрадиол оказывает благотворное влияние на женщин, защищая от коагулопатий путем изменения метаболизма Ca $^{2+}$ и повышения уровня NO [20, 36].

Возникает соблазн использовать эстрогены для предотвращения тромбоэмболии при COVID-19. Однако в условиях сверхфизиологических уровней эстрогенов, например при беременности, наблюдается усиление свертывающей функции. Увеличиваются уровни прокоагулянтных факторов, таких как FVII, FIX, FX, FXII, FXIII; снижаются уровни антикоагулянтных факторов, белка S и антитромбина, тем самым изменяя гемостатический баланс в сторону протромботического состояния [32].

Эстрогены и ренин-ангиотензиновая система

RAS необходима для регуляции артериального давления и водно-солевого гомеостаза. Предполагается, что половые различия в RAS являются одним из факторов, определяющих гендерное неравенство COVID-19. Вирионы SARS-CoV-2 используют ACE2 в качестве рецептора клетки-хозяина [37]. ACE2 человека кодируется на X-хромосоме и является важной частью RAS [38]. Он обладает обширными защитными функциями, опосредованными ангиотензином (Ang 1-7), рецептором ангиотензина II типа 2 (AT2) и рецептором Mas (MasR). В результате вирусной инвазии защитный эффект оси ACE2/ Ang 1-7/ MasR/ AT2 утрачивается [28].

Дифференциальная регуляция активности и экспрессии ACE2 у мужчин и женщин может объяснить гендерные различия в тяжести и исходах, связанных с COVID-19. Эстрадиол индуцирует увеличение экспрессии ACE2 и Ang1-7, что дает возможность противодействия пагубным эффектам Ang II при COVID-19 [39, 40]. Эстрогены могут уменьшать соотношение экспрессии ACE и ACE2, повышать уровень экспрессии MasR и AT2. Это подавляет воспалительный процесс и фиброз тканей, а также способствует восстановлению организма [28, 40].

Данные о влиянии эстрогенов на экспрессию мембрано-связанной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2) разнятся, что свидетельствует об ограниченности наших знаний в этой области. По сообщению одних исследователей эстрадиол увеличивал экспрессию

TMPRSS2 на уровне мРНК и белка [20, 41]. Другие авторы установили, что эстрадиол способен ингибировать выработку белка TMPRSS2 [29, 42]. TMPRSS2 необходим для обрезки и активации спайкового белка SARS-CoV-2 для связывания ACE2 и увеличения экспрессии А-дезинтегрина и металлопротеиназы (ADAM), в основном ADAM-17. Последняя может расщеплять эктодомен ACE2 с высвобождением растворимой формы ACE2, способной эффективно нейтрализовать SARS-CoV-2 [29, 43]. Активация ADAM-17 считается событием, дифференцирующим легкую и тяжелую коронавирусную инфекцию [17].

Заключение

Тяжесть и смертность от COVID-19 у мужчин выше по сравнению с женщинами. На основании доступной литературы мы попытались показать, что биологические половые различия в течении и исходах заболевания являются многофакторными. Фундаментальные различия между полами заключаются в гормональной среде, причем доминирующую роль здесь играют эстрогены. Они модулируют различные функции орга-

низма, в том числе иммунитет, систему коагуляции, рецепторы проникновения вирусов, что указывает на их решающее значение, дающее преимущество женщинам в условиях COVID-19. Отсутствие полной ясности понимания влияния пола на течение и биомаркеры COVID-19 подчеркивает необходимость дополнительных исследований механизмов, лежащих в основе половых различий для лучшего изучения закономерностей заболевания и планирования стратегии лечения вирусных инфекций.

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

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferretti V.V., Klersy C., Bruno R., Cutti S., Nappi R.E. Men with COVID-19 die. Women survive // Maturitas. 2022. Vol.158. P.34-36. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2021.11.014>
2. Rossato M., Andrisani A., Zabeo E., Di Vincenzo A. Men with COVID-19 die. Women survive...at any age! // Maturitas. 2022. Vol.163. P.88. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2022.05.004>
3. The Sex, Gender and COVID-19 Project. Global Health 5050. URL: <https://globalhealth5050.org/the-sex-gender-and-covid-19-project/>
4. Tukiainen T., Villani A.C., Yen A., Rivas M.A., Marshall J.L., Satija R., Aguirre M., Gauthier L., Fleharty M., Kirby A., Cummings B.B., Castel S.E., Karczewski K.J., Aguet F., Byrnes A. et al. Landscape of X chromosome inactivation across human tissues // Nature. 2017. Vol.550, Iss.7675. P.244–248. <https://doi.org/10.1038/nature24265>
5. Tipnis S.R., Hooper N.M., Hyde R., Karran E., Christie G., Turner A.J. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275, Iss.43. P.33238–33243. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002615200>
6. Klein S.L., Flanagan K.L. Sex differences in immune responses // Nat. Rev. Immunol. 2016. Vol.16, Iss.10. P.626–638. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.90>
7. Bouman A., Jan Heineman M., Faas M.M. Sex hormones and the immune response in humans // Hum. Reprod. Update. 2005. Vol.11, Iss.4. P.411–423. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi008>
8. Fish E.N. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses // Nat. Rev. Immunol. 2008. Vol.8, Iss.9. P.737–744. <https://doi.org/10.1038/nri2394>
9. Zhang Z. Genomic biomarker heterogeneities between SARS-CoV-2 and COVID-19 // Vaccines (Basel). 2022. Vol.10, Iss.10. Article number: 1657. <https://doi.org/10.3390/vaccines10101657>
10. Colona V.L., Vasiliou V., Watt J., Novelli G., Reichardt J.K.V. Correction to: Update on human genetic susceptibility to COVID-19: susceptibility to virus and response // Hum. Genomics. 2021. Vol.15, Iss.1. Article number: 59. <https://doi.org/10.1186/s40246-021-00360-1>
11. Kousathanas A., Pairo-Castineira E., Rawlik K., Stuckey A., Odhams C.A., Walker S., Russell C.D., Malinauskas T., Wu Y., Millar J., Shen X., Elliott K.S., Griffiths F., Oosthuizen W., Morrice K., Keating S., Wang B., Rhodes D., Klaric L., Zechner M. et al. Whole-genome sequencing reveals host factors underlying critical COVID-19 // Nature. 2022. Vol.607, Iss.7917. P.97–103. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04576-6>
12. Довжикова И.В. Ферменты стероидогенеза (обзор литературы) // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2010. Вып.37. С.60–64. EDN: MXHHDH.
13. Довжикова И.В., Андриевская И.А. Рецепторы эстрогенов (обзор литературы). Часть 1 // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2019. Вып.72. С.120–127. EDN: WDQNKP. https://doi.org/10.12737/article_5d0ad2e5d54867.15780111
14. Cheskis B.J., Greger J.G., Nagpal S., Freedman L.P. Signaling by estrogens // J. Cell Physiol. 2007. Vol.213, Iss.3.

- P.610–617. <https://doi.org/10.1002/jcp.21253>
15. Ambiore N.S., Kalidhindi R.S.R., Sathish V. Sex-Steroid signaling in lung diseases and inflammation // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2021. Vol.1303. P.243–273. https://doi.org/10.1007/978-3-030-63046-1_14
16. Reyes-García J., Montaño L.M., Carballo-García A., Wang Y.X. Sex hormones and lung inflammation // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2021. Vol.1304. P.259–321. https://doi.org/10.1007/978-3-030-68748-9_15
17. Viveiros A., Rasmussen J., Vu J., Mulvagh S.L., Yip C.Y.Y., Norris C.M., Oudit G.Y. Sex differences in COVID-19: candidate pathways, genetics of ACE2, and sex hormones // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2021. Vol.320, Iss.1. P.H296–H304. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00755.2020>
18. Fuentes N., Silveyra P. Endocrine regulation of lung disease and inflammation // *Exp. Biol. Med (Maywood)*. 2018. Vol.243, Iss.17–18. P.1313–1322. <https://doi.org/10.1177/1535370218816653>
19. Ghosh S., Klein R.S. Sex drives dimorphic immune responses to viral infections // *J. Immunol.* 2017. Vol.198, Iss.5. P.1782–1790. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601166>
20. Newson L., Manyonda I., Lewis R., Preissner R., Preissner S., Seeland U. Sensitive to Infection but strong in defense-female sex and the power of oestradiol in the COVID-19 Pandemic // *Front. Glob. Womens Health.* 2021. Vol.2. Article number: 651752. <https://doi.org/10.3389/fgwh.2021.651752>
21. Hao S., Zhao J., Zhou J., Zhao S., Hu Y., Hou Y. Modulation of 17beta-estradiol on the number and cytotoxicity of NK cells in vivo related to MCM and activating receptors // *Int. Immunopharmacol.* 2007. Vol.7, Iss.13. P.1765–1775. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.09.017>
22. Harding A.T., Heaton N.S. The Impact of estrogens and their receptors on immunity and inflammation during infection // *Cancers (Basel)*. 2022. Vol.14, Iss.4. Article number: 909. <https://doi.org/10.3390/cancers14040909>
23. Potluri T., Fink A.L., Sylvia K.E., Dhakal S., Vermillion M.S., Vom Steeg L., Deshpande S., Narasimhan H., Klein S.L. Age-associated changes in the impact of sex steroids on influenza vaccine responses in males and females // *NPJ Vaccines*. 2019. Vol.4. Article number: 29. <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0124-6>
24. Phiel K.L., Henderson R.A., Adelman S.J., Eloso M.M. Differential estrogen receptor gene expression in human peripheral blood mononuclear cell populations // *Immunol. Lett.* 2005. Vol.97, Iss.1. P.107–113. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2004.10.007>
25. Breithaupt-Faloppa A.C., Correia C.J., Prado C.M., Stilhano R.S., Ureshino R.P., Moreira L.F.P. 17β-Estradiol, a potential ally to alleviate SARS-CoV-2 infection // *Clinics (Sao Paulo)*. 2020. Vol.75. Article number: e1980. <https://doi.org/10.6061/clinics/2020/e1980>
26. Lipsa A., Prabhu J.S. Gender disparity in COVID-19: Role of sex steroid hormones // *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2021. Vol.14, Iss.1. P.5–9. <https://doi.org/10.4103/1995-7645.304293>
27. Takahashi T., Ellingson M.K., Wong P., Israelow B., Lucas C., Klein J., Silva J., Mao T., Oh J.E., Tokuyama M., Lu P., Venkataraman A., Park A., Liu F., Meir A., Sun J., Wang E.Y., Casanovas-Massana A., Wyllie A.L., Vogels C.B.F., Earnest R., Lapidus S., Ott I.M., Moore A.J., Yale IMPACT Research Team, Shaw A., Fournier J.B., Odio C.D., Farhadian S., Dela Cruz C., Grubaugh N.D., Schulz W.L., Ring A.M., Ko A.I., Omer S.B., Iwasaki A. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcome // *Nature*. 2020. Vol.588, Iss.7837. P.315–320. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2700-3>
28. Haitao T., Vermunt J.V., Abeykoon J., Ghamrawi R., Gunaratne M., Jayachandran M., Narang K., Parashuram S., Suvakov S., Garovic V.D. COVID-19 and sex differences: mechanisms and biomarkers // *Mayo Clin. Proc.* 2020. Vol.95, Iss.10. P.2189–2203. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.07.024>
29. Brandi M.L. Are sex hormones promising candidates to explain sex disparities in the COVID-19 pandemic? // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2022. Vol.23, Iss.2. P.171–183. <https://doi.org/10.1007/s11154-021-09692-8>
30. Al-Lami R.A., Urban R.J., Volpi E., Algburi A.M.A., Baillargeon J. Sex hormones and novel corona virus infectious disease (COVID-19) // *Mayo Clin. Proc.* 2020. Vol.95, Iss.8. P.1710–1714. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.05.013>
31. Mauvais-Jarvis F., Klein S.L., Levin E.R. Estradiol, progesterone, immunomodulation, and COVID-19 outcomes // *Endocrinology*. 2020. Vol.161, Iss.9. Article number: bqaa127. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa127>
32. Pivonello R., Auriemma R.S., Pivonello C., Isidori A.M., Corona G., Colao A., Millar RP. Sex disparities in COVID-19 severity and outcome: are men weaker or women stronger? // *Neuroendocrinology*. 2021. Vol.111, Iss.11. P.1066–1085. <https://doi.org/10.1159/000513346>
33. Connors J.M., Levy J.H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation // *Blood*. 2020. Vol.135, Iss.23. P.2033–2040. <https://doi.org/10.1182/blood.2020006000>
34. Salzano A., Demelo-Rodriguez P., Marra A.M., Proietti M. A focused review of gender differences in antithrombotic therapy // *Curr. Med. Chem.* 2017. Vol.24, Iss.24. P.2576–2588. <https://doi.org/10.2174/0929867323666161029223512>
35. Emms H., Lewis G.P. Sex and hormonal influences on platelet sensitivity and coagulation in the rat // *Br. J. Pharmacol.* 1985. Vol.86, Iss.3. P.557–563. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1985.tb08931.x>
36. Nakano Y., Oshima T., Matsuura H., Kajiyama G., Kambe M. Effect of 17beta-estradiol on inhibition of platelet aggregation in vitro is mediated by an increase in NO synthesis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998. Vol.18, Iss.6. P.

961–967. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.6.961>

37. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARS-CoV-2 Cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor // *Cell.* 2020. Vol.181, Iss.2. P.271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>

38. Crackower M.A., Sarao R., Oudit G.Y., Yagil C., Kozieradzki I., Scanga S.E., Oliveira-dos-Santos A.J., da Costa J., Zhang L., Pei Y., Scholey J., Ferrario C.M., Manoukian A.S., Chappell M.C., Backx P.H., Yagil Y., Penninger J.M. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function // *Nature.* 2002. Vol.417, Iss.6891. P.822–828. <https://doi.org/10.1038/nature00786>

39. Mompeón A., Lázaro-Franco M., Bueno-Betí C., Pérez-Cremades D., Vidal-Gómez X., Monsalve E., Gironacci M.M., Hermenegildo C., Novella S. Estradiol, acting through ER α , induces endothelial non-classic renin-angiotensin system increasing angiotensin 1-7 production // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2016. Vol.422, P.1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.11.004>

40. La Vignera S., Cannarella R., Condorelli R.A., Torre F., Aversa A., Calogero A.E. Sex-Specific SARS-CoV-2 mortality: among hormone-modulated ACE2 Expression, risk of venous thromboembolism and hypovitaminosis D // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol.21, Iss.8. Article number: 2948. <https://doi.org/10.3390/ijms21082948>

41. Ohnishi T., Nakamura T., Shima K., Noguchi K., Chiba N., Matsuguchi T. Periodontitis promotes the expression of gingival transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2), a priming protease for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) // *J. Oral. Biosci.* 2022. Vol.64, Iss.2. P.229–236. <https://doi.org/10.1016/j.job.2022.04.004>

42. Baristaite G., Gurwitz D. Estradiol reduces ACE2 and TMPRSS2 mRNA levels in A549 human lung epithelial cells. *Drug. Dev. Res.* 2022. Vol.83, Iss.4. P.961–966. <https://doi.org/10.1002/ddr.21923>

43. Healy E.F., Lilic M. A model for COVID-19-induced dysregulation of ACE2 shedding by ADAM17 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021. Vol.573. P.158–163. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.08.040>

REFERENCES

1. Ferretti V.V., Klersy C., Bruno R., Cutti S., Nappi R.E. Men with COVID-19 die. Women survive. *Maturitas* 2022; 158:34–36. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2021.11.014>
2. Rossato M., Andrisani A., Zabeo E., Di Vincenzo A. Men with COVID-19 die. Women survive...at any age! *Maturitas* 2022; 163:88. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2022.05.004>
3. The Sex, Gender and COVID-19 Project. Global Health 5050. Available at: <https://globalhealth5050.org/the-sex-gender-and-covid-19-project/>
4. Tukiainen T., Villani A.C., Yen A., Rivas M.A., Marshall J.L., Satija R., Aguirre M., Gauthier L., Fleharty M., Kirby A., Cummings B.B., Castel S.E., Karczewski K.J., Aguet F., Byrnes A. et al.; GTEx Consortium; Laboratory, Data Analysis &Coordinating Center (LDACC)—Analysis Working Group; Statistical Methods groups—Analysis Working Group; Enhancing GTEx (eGTEx) groups; NIH Common Fund; NIH/NCI; NIH/NHGRI; NIH/NIMH; NIH/NIDA; Biospecimen Collection Source Site—NDRI; Biospecimen Collection Source Site—RPCI; Biospecimen Core Resource—VARI; Brain Bank Repository—University of Miami Brain Endowment Bank; Leidos Biomedical—Project Management; ELSI Study; Genome Browser Data Integration & Visualization—EBI; Genome Browser Data Integration & Visualization—UCSC Genomics Institute, University of California Santa Cruz, Lappalainen T., Regev A., Ardlie K.G., Hacohen N., MacArthur D.G. Landscape of X chromosome inactivation across human tissues. *Nature* 2017; 550(7675):244–248. <https://doi.org/10.1038/nature24265>
5. Tipnis S.R., Hooper N.M., Hyde R., Karran E., Christie G., Turner A.J. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J. Biol. Chem.* 2000; 275:33238–33243. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002615200>
6. Klein S.L., Flanagan K.L. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2016; 16(10):626–638. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.90>
7. Bouman A., Jan Heineman M., Faas M.M. Sex hormones and the immune response in humans. *Hum. Reprod. Update* 2005; 11(4):411–423. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi008>
8. Fish E.N. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8(9):737–744. <https://doi.org/10.1038/nri2394>
9. Zhang Z. Genomic biomarker heterogeneities between SARS-CoV-2 and COVID-19. *Vaccines (Basel)* 2022; 10(10):1657. <https://doi.org/10.3390/vaccines10101657>
10. Colona V.L., Vasiliou V., Watt J., Novelli G., Reichardt J.K.V. Correction to: Update on human genetic susceptibility to COVID-19: susceptibility to virus and response. *Hum. Genomics* 2021; 15(1):59. <https://doi.org/10.1186/s40246-021-00360-1>
11. Kousathanas A., Pairo-Castineira E., Rawlik K., Stuckey A., Odhams C.A., Walker S., Russell C.D., Malinauskas T., Wu Y., Millar J., Shen X., Elliott K.S., Griffiths F., Oosthuizen W., Morrice K., Keating S., Wang B., Rhodes D., Klaric

L., Zechner M., Parkinson N., Siddiq A., Goddard P., Donovan S., Maslove D., Nichol A., Semple M.G., Zainy T., Ma-leaday-Crowe F., Todd L., Salehi S., Knight J., Elgar G., Chan G., Arumugam P., Patch C., Rendon A., Bentley D., Kingsley C., Kosmicki J.A., Horowitz J.E., Baras A., Abecasis G.R., Ferreira M.A.R., Justice A., Mirshahi T., Oetjens M., Rader D.J., Ritchie M.D., Verma A., Fowler T.A., Shankar-Hari M., Summers C., Hinds C., Horby P., Ling L., McAuley D., Montgomery H., Openshaw P.J.M., Elliott P., Walsh T., Tenesa A. GenOMICC investigators, 23andMe investigators, COVID-19 Human Genetics Initiative, Fawkes A., Murphy L., Rowan K., Ponting C.P., Vitart V., Wilson J.F., Yang J., Bretherick A.D., Scott R.H., Hendry S.C., Moutsianas L., Law A., Caulfield M.J., Baillie J.K. Whole-genome sequencing reveals host factors underlying critical COVID-19. *Nature* 2022; 607(7917):97–103. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04576-6>

12. Dovzhikova I.V. [Steroidogenesis enzymes (review)]. *Bülleten'fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2010; (37):60–64 (in Russian).

13. Dovzhikova I.V, Andrievskaya I.A. [Estrogen receptors (review)]. Part 1. *Bülleten'fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2019; (72):120–127 (in Russian). https://doi.org/10.12737/article_5d0ad2e5d54867.15780111

14. Cheskis B.J., Greger J.G., Nagpal S., Freedman L.P. Signaling by estrogens. *J. Cell Physiol.* 2007; 213(3):610–617. <https://doi.org/10.1002/jcp.21253>

15. Ambore N.S., Kalidhindi R.S.R., Sathish V. Sex-Steroid signaling in lung diseases and inflammation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2021; 1303:243–273. https://doi.org/10.1007/978-3-030-63046-1_14

16. Reyes-García J., Montaño L.M., Carbalal-García A., Wang Y.X. Sex hormones and lung inflammation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2021; 1304:259–321. https://doi.org/10.1007/978-3-030-68748-9_15

17. Viveiros A., Rasmussen J., Vu J., Mulvagh S.L., Yip C.Y.Y., Norris C.M., Oudit G.Y. Sex differences in COVID-19: candidate pathways, genetics of ACE2, and sex hormones. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2021; 320(1):H296–H304. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00755.2020>

18. Fuentes N., Silveyra P. Endocrine regulation of lung disease and inflammation. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* 2018; 243(17–18):1313–1322. <https://doi.org/10.1177/1535370218816653>

19. Ghosh S., Klein R.S. Sex drives dimorphic immune responses to viral infections. *J. Immunol.* 2017; 198(5):1782–1790. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601166>

20. Newson L., Manyonda I., Lewis R., Preissner R., Preissner S., Seeland U. Sensitive to infection but strong in defense-female sex and the power of oestradiol in the COVID-19 Pandemic. *Front. Glob. Womens Health* 2021; 2:651752. <https://doi.org/10.3389/fgwh.2021.651752>

21. Hao S., Zhao J., Zhou J., Zhao S., Hu Y., Hou Y. Modulation of 17beta-estradiol on the number and cytotoxicity of NK cells in vivo related to MCM and activating receptors. *Int. Immunopharmacol.* 2007; 7(13):1765–17675. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.09.017>

22. Harding A.T., Heaton N.S. The Impact of estrogens and their receptors on immunity and inflammation during Infection. *Cancers (Basel)* 2022; 14(4):909. <https://doi.org/10.3390/cancers14040909>

23. Potluri T., Fink A.L., Sylvia K.E., Dhakal S., Vermillion M.S., Vom Steeg L., Deshpande S., Narasimhan H., Klein S.L. Age-associated changes in the impact of sex steroids on influenza vaccine responses in males and females. *NPJ Vaccines* 2019; 4:29. <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0124-6>

24. Phiel K.L., Henderson R.A., Adelman S.J., Eloso M.M. Differential estrogen receptor gene expression in human peripheral blood mononuclear cell populations. *Immunol. Lett.* 2005; 97(1):107–113. doi: 10.1016/j.imlet.2004.10.007

25. Breithaupt-Faloppa A.C., Correia C.J., Prado C.M., Stilhano R.S., Ureshino R.P., Moreira L.F.P. 17 β -Estradiol, a potential ally to alleviate SARS-CoV-2 infection. *Clinics (Sao Paulo)* 2020; 75:e1980. <https://doi.org/10.6061/clinics/2020/e1980>

26. Lipsa A., Prabhu J.S. Gender disparity in COVID-19: Role of sex steroid hormones. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2021; 14(1):5–9. <https://doi.org/10.4103/1995-7645.304293>

27. Takahashi T., Ellingson M.K., Wong P., Israelow B., Lucas C., Klein J., Silva J., Mao T., Oh J.E., Tokuyama M., Lu P., Venkataraman A., Park A., Liu F., Meir A., Sun J., Wang E.Y., Casanovas-Massana A., Wyllie A.L., Vogels C.B.F., Earnest R., Lapidus S., Ott I.M., Moore A.J., Yale IMPACT Research Team, Shaw A., Fournier J.B., Odio C.D., Farhadian S., Dela Cruz C., Grubaugh N.D., Schulz W.L., Ring A.M., Ko A.I., Omer S.B., Iwasaki A. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature* 2020; 588(7837):315–320. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2700-3>

28. Haitao T., Vermunt J.V., Abeykoon J., Ghamrawi R., Gunaratne M., Jayachandran M., Narang K., Parashuram S., Suvakov S., Garovic V.D. COVID-19 and sex differences: mechanisms and biomarkers. *Mayo Clin. Proc.* 2020; 95(10): 2189–2203. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.07.024>

29. Brandi M.L. Are sex hormones promising candidates to explain sex disparities in the COVID-19 pandemic? *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2022; 23(2):171–183. doi: 10.1007/s11154-021-09692-8

30. Al-Lami R.A., Urban R.J., Volpi E., Algburi A.M.A., Baillargeon J. Sex Hormones and novel corona virus infectious

- disease (COVID-19). *Mayo Clin. Proc.* 2020; 95(8):1710–1714. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2020.05.013>
31. Mauvais-Jarvis F., Klein S.L., Levin E.R. Estradiol, progesterone, immunomodulation, and COVID-19 Outcomes. *Endocrinology* 2020; 161(9):bqaa127. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa127>
32. Pivonello R., Auriemma R.S., Pivonello C., Isidori A.M., Corona G., Colao A., Millar R.P. Sex disparities in COVID-19 severity and outcome: are men weaker or women stronger? *Neuroendocrinology* 2021; 111(11):1066–1085. <https://doi.org/10.1159/000513346>
33. Connors J.M., Levy J.H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood* 2020; 135(23):2033–2040. <https://doi.org/10.1182/blood.2020006000>
34. Salzano A., Demelo-Rodriguez P., Marra A.M., Proietti M. A focused review of gender differences in antithrombotic therapy. *Curr. Med. Chem.* 2017; 24(24):2576–2588. <https://doi.org/10.2174/0929867323666161029223512>
35. Emms H., Lewis G.P. Sex and hormonal influences on platelet sensitivity and coagulation in the rat. *Br. J. Pharmacol.* 1985; 86(3):557–563. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1985.tb08931.x>
36. Nakano Y., Oshima T., Matsuura H., Kajiyama G., Kambe M. Effect of 17beta-estradiol on inhibition of platelet aggregation in vitro is mediated by an increase in NO synthesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18(6):961–967. <https://doi.org/10.1161/01.atv.18.6.961>
37. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., Schiergens T.S., Herrler G., Wu N.H., Nitsche A., Müller M.A., Drosten C., Pöhlmann S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020; 181 (2):271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
38. Crackower M.A., Sarao R., Oudit G.Y., Yagil C., Kozieradzki I., Scanga S.E., Oliveira-dos-Santos A.J., da Costa J., Zhang L., Pei Y., Scholey J., Ferrario C.M., Manoukian A.S., Chappell M.C., Backx P.H., Yagil Y., Penninger J.M. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function. *Nature* 2002; 417(6891):822–828. <https://doi.org/10.1038/nature00786>
39. Mompeón A., Lázaro-Franco M., Bueno-Betí C., Pérez-Cremades D., Vidal-Gómez X., Monsalve E., Gironacci M.M., Hermenegildo C., Novella S. Estradiol, acting through ER α , induces endothelial non-classic renin-angiotensin system increasing angiotensin 1-7 production. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2016; 422:1–8. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.11.004>
40. La Vignera S., Cannarella R., Condorelli R.A., Torre F., Aversa A., Calogero A.E. Sex-Specific SARS-CoV-2 mortality: among hormone-modulated ACE2 expression, risk of venous thromboembolism and hypovitaminosis D. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(8):2948. <https://doi.org/10.3390/ijms21082948>
41. Ohnishi T., Nakamura T., Shima K., Noguchi K., Chiba N., Matsuguchi T. Periodontitis promotes the expression of gingival transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2), a priming protease for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *J. Oral Biosci.* 2022; 64(2):229–236. <https://doi.org/10.1016/j.job.2022.04.004>
42. Baristaite G., Gurwitz D. Estradiol reduces ACE2 and TMPRSS2 mRNA levels in A549 human lung epithelial cells. *Drug Dev. Res.* 2022; 83(4):961–966. <https://doi.org/10.1002/ddr.21923>
43. Healy E.F., Lilic M. A model for COVID-19-induced dysregulation of ACE2 shedding by ADAM17. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2021; 573:158–163. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.08.040>

Информация об авторах:

Инна Викторовна Довжикова, д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dov_kova100@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8938-3594>

Ирина Анатольевна Андриевская, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

Author information:

Inna V. Dovzhikova, PhD, DSc (Biol.), Leading Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dov_kova100@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8938-3594>

Irina A. Andrievskaya, PhD, DSc (Biol.), Professor of RAS, Head of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

Карен Саргисович Лязгиян, аспирант, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: lyazgiyankaren@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8329-3237>

Поступила 07.11.2022
Принята к печати 28.11.2022

Karen S. Lyazgiyan, Postgraduate Student, Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: lyazgiyankaren@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8329-3237>

Received November 07, 2022
Accepted November 28, 2022

УДК 616.248-08:612-092.18:615.324

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-129-137

ПЕРСПЕКТИВЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ N-АЦИЛЭТАНОЛАМИНОВ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ НА ПРИМЕРЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

И.С.Коваленко, Ю.К.Денисенко, Т.П.Новгородцева, Н.В.Бочарова, У.М.Оматова

Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г

РЕЗЮМЕ. Введение. В настоящее время не до конца изучены и механизмы процессов разрешения хронического воспаления при бронхиальной астме (БА). Требуется поиск новых фармакологических препаратов и веществ для лечения и контроля течения БА. Перспективными в этом направлении являются N-ацилэтаноламины (NAE) полиненасыщенных жирных кислот – биоактивные липидные молекулы, которые проявляют множество сигнальных функций. NAE способны влиять на синтез провоспалительных цитокинов, а также являются субстратом для синтеза липидных сигнальных молекул проразрешающего действия. В настоящем обзоре собраны данные о NAE, приведены общие сведения, биосинтез, а также описаны их противовоспалительные эффекты. **Цель.** Обобщение данных отечественных и зарубежных исследователей о возможности применения NAE в терапии заболеваний органов дыхания на примере БА. **Материалы и методы.** В обзоре использованы данные статей, опубликованных в PubMed, Google Scholar, eLIBRARY. **Результаты.** Изучение литературы по данному вопросу позволили заключить, что синтетические NAE – перспективные фармакологические объекты для терапии БА, однако необходимы дальнейшие испытания противовоспалительных эффектов NAE, установление молекулярного механизма их действия на процессы воспаления.

Ключевые слова: бронхиальная астма, клеточно-молекулярные мишени, этаноламины полиненасыщенных жирных кислот.

PROSPECTS FOR THE PHARMACOLOGICAL APPLICATION OF N-ACYLETHANOLAMINES OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN THE THERAPY OF RESPIRATORY DISEASES ON THE EXAMPLE OF BRONCHIAL ASTHMA

I.S.Kovalenko, Yu.K.Denisenko, T.P.Novgorodtseva, N.V.Bocharova, U.M.Omatova

Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, 73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation

SUMMARY. Introduction. At present, the mechanisms of the processes of resolving chronic inflammation in asthma are not fully understood. A search for new pharmacological preparations and substances for the treatment and control of the course of asthma is required. Promising in this direction are N-acylethanolamines (NAE) of polyunsaturated fatty acids – bioactive lipid molecules that exhibit many signaling functions. NAEs are capable of influencing the synthesis of pro-inflammatory cytokines and are also appear to be a substrate for the synthesis of pro-permissive lipid signaling molecules. This review collects data on NAE, provides an overview, biosynthesis, and describes their anti-inflammatory effects. **Aim.**

Контактная информация

Иван Сергеевич Коваленко, аспирант, лаборатория биомедицинских исследований, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, Россия, г. Владивосток, ул. Русская, 73г. E-mail: dr.kovalenko.is@gmail.com

Correspondence should be addressed to

Ivan S. Kovalenko, Postgraduate student, Laboratory of Biomedical Research,, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, 73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation. E-mail: dr.kovalenko.is@gmail.com

Для цитирования:

Коваленко И.С., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Бочарова Н.В., Оматова У.М. Перспективы фармакологического применения N-ацилэтаноламинов полиненасыщенных жирных кислот в терапии заболеваний органов дыхания на примере бронхиальной астмы // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.129–137. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-129-137

For citation:

Kovalenko I.S., Denisenko Yu.K., Novgorodtseva T.P., Bocharova N.V., Omatova U.M. Prospects for the pharmacological application of N-acylethanolamines of polyunsaturated fatty acids in the therapy of respiratory diseases on the example of bronchial asthma. *Bülleten'fiziologii i patologii dyhaniā* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2022; (86):129–137 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-129-137

Summarizing the data of domestic and foreign researchers on the possibility of NAE in the treatment of respiratory diseases on the example of bronchial asthma. **Materials and methods.** The review uses data from articles published in PubMed, Google Scholar, eLIBRARY. **Results.** The study and compilation of literature on this issue made it possible to conclude that synthetic NAEs are promising pharmacological objects for asthma therapy, however, further testing of the anti-inflammatory effects of NAEs and the establishment of the molecular mechanism of their action on inflammation processes are needed.

Key words: asthma, cellular and molecular targets, ethanolamines of polyunsaturated fatty acids.

Введение

Бронхиальная астма (БА) – гетерогенное заболевание, которое характеризуется хроническим воспалением дыхательных путей, наличием респираторных симптомов (свистящих хрипов, одышки, заложенности в груди и кашля), изменяющихся по времени, интенсивности и проявляющихся вместе с обструкцией дыхательных путей. Гетерогенность БА проявляется различными фенотипами [1]. Анализ гетерогенности способствует нашему пониманию патогенеза заболевания и разработке новых терапевтических стратегий, особенно при тяжелом течении болезни. Наблюдаемые характеристики (фенотипы) астмы, включая клинические проявления и лежащие в его основе механизмы (эндотипы), сложны и представляют собой множество взаимодействий организма и окружающей среды. Гетерогенность БА затрудняет её лечение у многих пациентов. В связи с чем актуальным является поиск и разработка новых методов и способов лечения астмы.

В промышленно развитых странах миллионы людей страдают от неадекватной активации и нарушения регуляции иммунных реакций, ответственных за развитие БА. Эти расстройства становятся все более распространенными и представляют собой серьезную проблему общественного здравоохранения [2]. Воспаление дыхательных путей при БА во многих случаях опосредуется через продолжающуюся активацию Т-хелперного иммунного ответа 2-го типа (Th2) с инфильтрацией в слизистую оболочку бронхов активированных тучных клеток, дендритных и Th2 клеток. Эти клетки высвобождают провоспалительные медиаторы, такие как интерлейкин (IL)-5, IL-13, простагландин, лейкотриены, и вызывают эозинофилию. Текущие терапевтические стратегии БА в основном противовоспалительные и направлены на контроль симптомов. Тогда как основополагающий механизм развития хронического системного воспаления при астме заключен в нарушении процессов его разрешения. Появляется все больше свидетельств и доказательств того, что хроническое и неконтролируемое воспаление при БА – это результат не только повышенного или повторяющегося воздействия провокационных экзо- и эндогенных раздражителей, приводящих к избыточному воспалению дыхательных путей, но и следствие неконтролируемого и недостаточного включения контррегуляторных сигнальных путей разрешения воспаления. Действительно, снижение уровня липидных проразрешающих медиаторов вместе с дефектом экспрессии соответствующих генов и рецепто-

ров связано с тяжелой и неконтролируемой астмой [2]. Этот факт требует уточнения фармакологических подходов для лечения и контроля БА.

Естественное разрешение воспаления дыхательных путей в настоящее время признано активной реакцией с хорошо скоординированными клеточными событиями под контролем эндогенных проразрешающих медиаторов, которые позволяют восстановить гомеостаз клеток и тканей. Ведущими участниками процесса разрешения воспаления являются липидные медиаторы – продукты ферментативных реакций полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), включая липоксины, синтезированные из арахидоновой кислоты (20:4n-6, AA от англ. arachidonic acid), резолвины Е-серии, полученные из эйказапентаеновой кислоты (EPA, 20:5n-3 от англ. eicosapentaenoic acid), резолвины D-серии, протектины и марезины, образованные из докозагексаеновой кислоты (DHA, 22:6n-3 от англ. docosahexaenoic acid). ПНЖК n-3, включая EPA, докозапентаеновую кислоту и DHA, проявляют широкий спектр различных эффектов в организме человека. В том числе большое количество эпидемиологических исследований и клинических испытаний свидетельствуют о положительной связи между потреблением n-3 ПНЖК и уменьшением воспалительных симптомов. Результаты, полученные с помощью трансгенных мышей, показали, что более высокое содержание n-3 ПНЖК в тканях придает им противовоспалительный и/или тканезащитный фенотип [3]. Многие биологические действия ПНЖК опосредованы их превращением в биоактивные липидные медиаторы, продуцируемые оксигеназами жирных кислот, такими как циклооксигеназы (COX от англ. cyclooxygenase), липоксигеназы (LOX от англ. lipoxygenase) и монооксигеназы цитохрома P450 (CYP от англ. cytochrome P450) [4, 5]. Например, AA высвобождается из мембранных фосфолипидов в ответ на воспалительные стимулы и затем превращается в эйказаноиды – простагландин, лейкотриены и липоксины. n-3 ПНЖК – EPA и DHA, также могут превращаться в очагах воспаления в биологически активные медиаторы противовоспалительного и проразрешающего характера действия.

Считается, что противовоспалительный эффект n-3 ПНЖК осуществляется не только за счет образования эйказаноидов и проразрешающих липидных медиаторов, но и за счет превращения их в альтернативные метаболиты [6], такие как N-ацилэтаноламины ПНЖК. NAE являются важными биоактивными липидными молекулами, которые проявляют множество сигналь-

ных функций. Нарушение биосинтеза NAE, а также баланса между их количеством детерминирует изменение различных физиологических процессов, начиная от регуляции воспаления и заканчивая контролем поведенческих реакций. В литературе превалирует информация о значении NAE, в частности этаноламина арахидоновой кислоты, или анандамида, в нейро-регуляторных процессах и нейровоспалении. Учитывая уникальную иммунорегуляторную роль N-ацилэтаноламинов n-3 ПНЖК в воспалительных реакциях, представляет большой интерес изучение NAE эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот в механизме регуляции хронического системного воспаления при заболеваниях органов дыхания.

Биосинтез NAE

Перспективными агентами для лечения воспаления при БА могут стать этаноламины ПНЖК. N-ацилэтаноламины являются продуктами метаболизма глициерофосфатидилэтаноламинов. По химической номенклатуре NAE представляют собой амиды жирных кислот, где ацильный фрагмент связан с этаноламином через амидную группу, и классифицируются на основе количества атомов углерода, которыми они обладают, и уровня насыщения ацильной цепи (рис. 1) [7]. Наиболее изученными NAE жирных кислот являются: N-пальмитоилэтаноламин или этаноламин пальмитиновой кислоты (PEA от англ. N-palmitoylethanolamine), N-эйкозапентаонилэтаноламин или этаноламин эйкозапентаеновой кислоты (EPEA от англ. N-eicosapentaenoylethanolamine), N-докозагексаноилэтаноламин или этаноламин докозагексаеновой кислоты (DHEA от англ. N-docosahexaenoyl ethanolamine) или синаптамид, N-арахидонойлэтаноламин или этаноламин арахидоновой кислоты, или анандамид (AEA от англ. N-arachidonoylethanolamine).

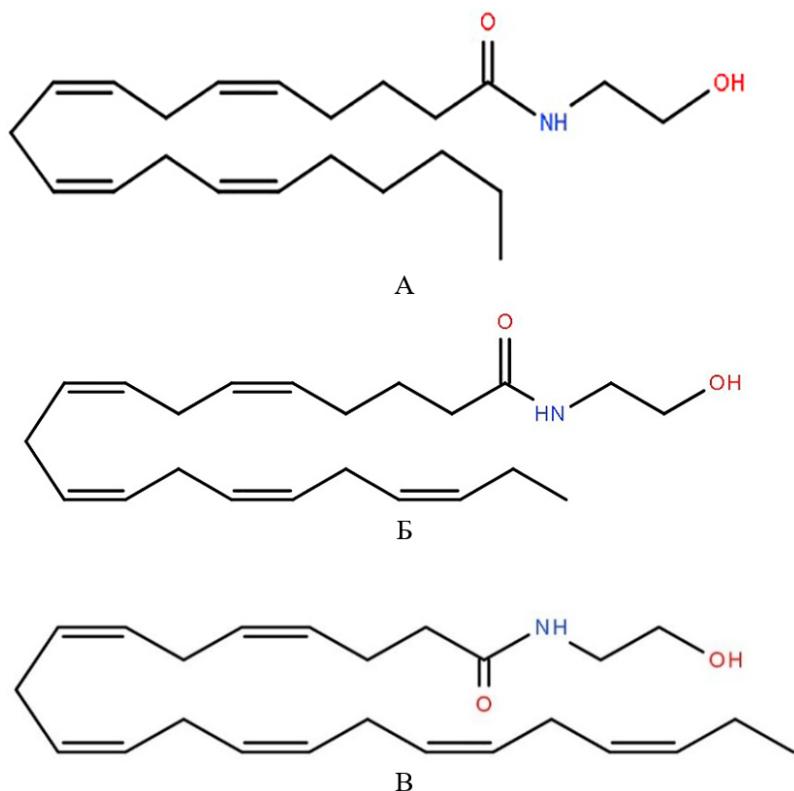


Рис. 1. Химическая структура N-ацилэтаноламинов: А – этаноламид арахидоновой кислоты (анандамин); Б – этаноламид эйкозапентаеновой кислоты; В – этаноламид докозагексаеновой кислоты (синаптамид). Источник: LIPIDMAPS <https://www.lipidmaps.org/databases/>

Синтез NAE осуществляется из мембранных глициерофосфатидилэтаноламинов под действием специфической фосфолипазы (NAPE-PLD, от англ. N-acyl phosphatidylethanolaminespecific phospholipase-D) (рис. 2). Первая реакция биосинтеза NAE – это N-ацилирование этаноламиновых фосфолипидов диацильного типа, приводящее к образованию N-ацилированных этаноламинфосфолипидов. Ответственный фермент данной реакции – N-ацилтрансфераза, которая имеет

несколько уникальных свойств [8]. Во-первых, фермент использует фосфатидилхолин, 1-ацил-лизо-фосфотидилхолин, фосфатидилэтаноламин и кардиолипин в качестве донорских субстратов и селективно извлекает ацильную группу из положения sn-1 этих доноров. Таким образом, 2-ациллизофосфолипид, который обычно продуцируется фосфолипазой A1, является другим продуктом этой реакции. Ацил-КоА не используется, хотя эта молекула служит донорским субстра-

том для многих других ацилтрансфераз. Во-вторых, фермент связан с мембранами и может быть солубилизирован с помощью неионного детергента Nonidet P-40. В-третьих, активность фермента стимулируется Ca^{2+} . Заметное повышение уровня внутриклеточного Ca^{2+} активирует N-ацилтрансферазу [8]. Однако неясно, усиливает ли умеренное повышение уровня Ca^{2+} , вызванное физиологическими стимулами, ферментативную активность. Несмотря на многолетние усилия, Ca^{2+} -зависимая N-ацилтрансфераза остается не исследованной на молекулярном уровне.

Следующий этап биосинтеза амидов жирных кислот – высвобождение NAE из фосфатидилэтаноламинов с участием фермента NAPE-PLD. NAPE-PLD прочно связана с мембранами. Растворимый фермент, полученный обработкой детергентом, можно стимулировать за счет миллимолярных концентраций двух-

валентных катионов, включая Ca^{2+} и Mg^{2+} [9]. Однако физиологические регуляторы активности NAPE-PLD неизвестны. Липополисахарид (ЛПС) подавляет экспрессию мРНК NAPE-PLD в клетках макрофагов RAW264.7. ЛПС изменяет состояние ацетилирования гистоновых белков, связанных с промотором NAPE-PLD, и подавляет транскрипцию мРНК NAPE-PLD [10]. Фактор транскрипции Sp1 участвует в регуляции базовой экспрессии NAPE-PLD, но не в подавлении ЛПС.

Далее образовавшиеся амиды жирных кислот деградируются амидгидролазой жирных кислот (FAAH от англ. fatty acid amide hydrolase), которая гидролизует NAE до соответствующих жирных кислот и этаноламина. FAAH представляет собой серингидролазу, принадлежащую к семейству сигнатур амидаз [11].

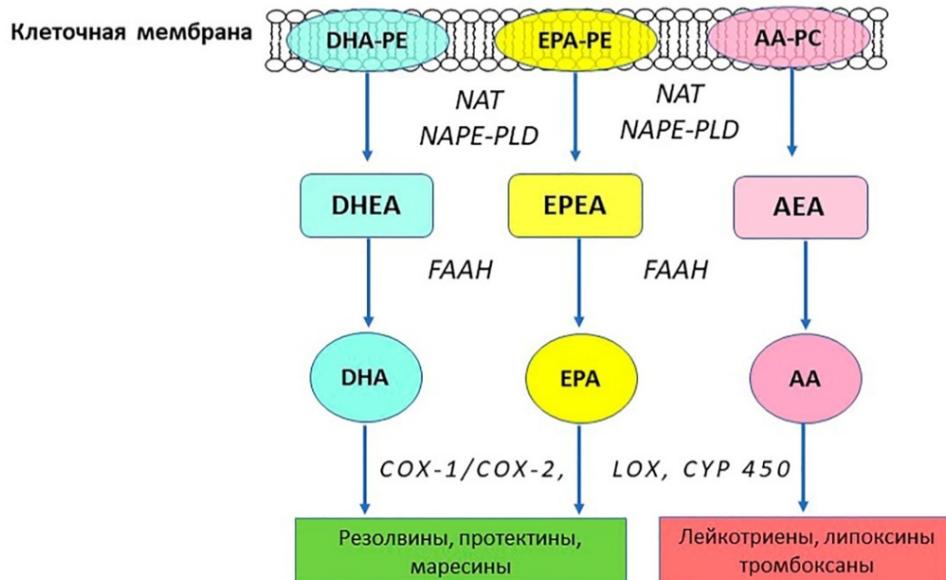


Рис. 2. Схема биосинтеза этаноламинов жирных кислот (оригинальная схема авторов).

DHEA и EPEA относят к группе эндогенных каннабиноидов, которые являются предшественниками более мощных биоактивных молекул, действующих через каннабиноидные рецепторы (CB), либо любым другим способом (CB-независимый путь). DHEA и EPEA могут подвергаться дальнейшим модификациям посредством COX, LOX и CYP450 с образованием оксилипинов. Механизм действия этих новообразованных метаболитов еще предстоит изучить. Известно, что DHEA и EPEA обладают антипролиферативными, а также противовоспалительными свойствами и могут быть ключевыми модуляторами воспалительного каскада [12]. Однако, механизм их действия до сих пор до конца не раскрыт.

Фармакологическая роль NAE в реакциях воспаления

Как было сказано выше, наиболее изученный эта-

ноламин ПНЖК – этаноламин арахидоновой кислоты или анандамид, который представляет собой нейромедиатор. Анандамид был первым обнаруженным эндо-каннабиноидом [13]. Эффекты анандамида могут проявляться как в центральной, так и в периферической нервной системе. Эти различные воздействия опосредуются в первую очередь каннабиноидными рецепторами CB1 в центральной нервной системе и каннабиноидными рецепторами CB2, обнаруженные в иммунокомпетентных клетках [14].

В наших предыдущих исследованиях было изучено влияние N-ацил-этаноламина арахидоновой кислоты на синтез цитокинов и оксилипинов лейкоцитами крови пациентов с БА в условиях *in vitro* [15]. Установлен дозозависимый противовоспалительный эффект N-ацил-этаноламина арахидоновой кислоты у больных БА. Способность NAE 20:4 ингибировать синтез TNF- α и IL-8 обусловлена свойствами данного этаноламида

угнетать экспрессию ядерного фактора транскрипции NF-кБ через PPAR α . Полученные данные являются отправной точкой для дальнейшего исследования противовоспалительного действия этаноламинов ПНЖК при БА и создания таргетных препаратов контроля хронического воспаления.

Однако не только N-ацил-этаноламин арахидоновой кислоты способен проявлять противовоспалительные эффекты. Некоторые амиды жирных кислот, в том числе те, которые связываются с каннабиноидными рецепторами, проявляют противовоспалительные или общие иммуномодулирующие свойства [16]. Сравнивая ряд NAE по их способности ингибиовать высвобождение NO из стимулированных RAW264.7 макрофагов, было показано, что DHEA был наиболее мощным из испытанных соединений, вызывая дозозависимый эффект [17]. EPEA и DHEA также были способны ингибировать высвобождение NO, тогда как анандамид был неактивен по отношению к нитроксигеназной системе. Интересно, что предшественник DHEA – DHA показал гораздо меньший эффект. В той же клеточной линии DHEA значительно подавлял продукцию хемокина CCL2 (MCP-1), а в перitoneальных макрофагах мышей, стимулированных ЛПС, снижал продукцию CCL2, IL-6 и NO. Ингибирование происходило на уровне транскрипции, поскольку экспрессия гена CCL2 и индуцируемой NOS угнеталась DHEA. В дифференцированных адипоцитах 3T3-L1 DHEA и EPEA уменьшали ЛПС-индуцированную продукцию CCL2 и IL-6 [18]. Оба соединения были эффективны уже при такой низкой концентрации, как 1 нМ. Аналогично тому, что было показано для анандамида, было обнаружено, что уровни DHEA и EPEA в тканях увеличиваются у мышей, которых кормили рыбьим жиром после воспалительного стимула [19]. Это указывает на роль этих соединений как эндогенных противовоспалительных медиаторов. Повышенный синтез DHEA и EPEA после применения ПНЖК важно учитывать при терапии алиментарными длинноцепочечными жирными кислотами.

Для дальнейшего выяснения основных механизмов иммуномодулирующей активности DHEA было изучено его влияние на синтез различных ключевых медиаторов воспаления [20]. DHEA дозозависимо снижал уровни простагландинов и тромбоксана B₂, генерируемых циклооксигеназой 2 в макрофагах RAW264.7, стимулированных ЛПС. В низких концентрациях DHEA вызывал меньший эффект на синтез оксилипинов в активированных макрофагах, тогда как его исходное соединение DHA не изменяло уровни метаболитов, образуемых COX-2 в этом диапазоне концентраций. Поскольку экспрессия белка COX-2 не изменилась, эти эффекты могли быть связаны с конкуренцией DHEA или его оксигенированных метаболитов с AA. Действительно ли DHEA действует в качестве субстрата для COX-2, генерируя таким образом активные или неактивные метаболиты, или оказывает он в основном

свои эффекты напрямую, индуцируя сдвиг в провоспалительных медиаторах, еще предстоит выяснить.

DHEA оказывал противовоспалительное действие на нескольких различных моделях воспаления. Например, синтез и противовоспалительные свойства DHEA впервые были продемонстрированы в адипоцитах 3T3-L1. Добавление DHA в дозах от 10 до 50 мкМ через 24 часа увеличивало уровень превращения DHA в DHEA в 2-7 раз выше по сравнению с контрольной группой. Добавление DHEA в концентрации от 1 нМ до 10 мкМ снижало выработку провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и моноцитарного хемотаксического белка-1 (MCP-1), в дифференцированных адипоцитах стимулированных ЛПС. Примечательно, что оба маркера были снижены на 50% в присутствии 10 нМ DHEA по сравнению с DHA, которая не действовала в этой концентрации. Кроме того, при целенаправленном ингибировании каннабиноидных рецепторов показано, что снижение провоспалительных маркеров частично опосредовано PPAR γ и CB2 рецептором. Эти исследования подтвердили, что DHEA в адипоцитах проявляет противовоспалительные свойства, которые опосредованы как CB-рецепторами, так и без них [18].

Эффекты DHEA были дополнительно исследованы на макрофагах. DHEA в дозе 10 мкМ в значительной степени ингибировала продукцию оксида азота (NO) и MCP-1 в ЛПС-стимулированных RAW264.7 и перitoneальных макрофагах [19]. Чтобы выяснить потенциальную роль передачи сигналов толл-подобного рецептора (TLR) в противовоспалительных эффектах, вызванных DHEA, было исследовано участие пути первичного ответа миелоидной дифференцировки TLR3/TLR4. Интересно, что обработка DHEA макрофагов, индуцированных ЛПС полицитидовой кислотой, приводила к значительному снижению уровня NO. Однако DHEA не ингибирует активацию NF-кБ или IFN- β , связанную с TLR3/TLR4 путем. Кроме того, исследования показали, что CB1, CB2 и PPAR γ вносят минимальный вклад в снижение NO с помощью DHEA. Далее предполагается, что снижение продукции NO идет неисследованным путем. В настоящее время известно, что DHEA может косвенно снижать провоспалительную реакцию за счет уменьшения количества эйкозаноидов, производных AA, или она дополнительно преобразуется ферментами, синтезирующими эйкозаноиды, с образованием противовоспалительных липидных метаболитов [21].

Так как было показано, что EPA обладает противовоспалительными свойствами, эффекты EPEA изучались на адипоцитах и миобластах. В адипоцитах 3T3-L1 добавление от 10 до 50 мкМ EPA приводило к увеличению EPEA в 3,5-10,9 раз. Когда LPS-стимулированные адипоциты обрабатывали EPEA, уровни провоспалительных цитокинов IL-6 и MCP-1 снижались на 50%. Стимуляция LPS повышала уровень EPEA в несколько раз больше, чем DHEA, возможно, из-за более высоких эндогенных уровней этерифицированной

EPA, чем DHA [18, 22]. В миобластах C2C12, обработанных EPEA, увеличивалась экспрессия эндоканнабиноидных рецепторов. Кроме того, EPEA-индуцированная экспрессия эндоканнабиноидного рецептора была исследована для регулирования чувствительности к инсулину посредством активации пути митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK). Интересно, что, когда миобlastы C2C12 были обработаны EPEA, фосфорилирование p38 MAPK было изменено. Уровни мРНК N-ацилфосфатидилэтаноламина фосфолипазы увеличивались при добавлении EPEA [23]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что EPEA может косвенно оказывать свои противовоспалительные эффекты за счет повышения уровня других эндоканнабиноидов. В конечном счете они могут способствовать снижению уровня провоспалительных цитокинов и повышать чувствительность к инсулину посредством активации пути MAPK.

Заключение

Таким образом, этаноламины ПНЖК являются многообещающими липидными биомодуляторами системного воспаления, в том числе и при БА, учитывая природу развития данного заболевания. Этаноламины ПНЖК задействованы во многих физиологических процессах организма, начиная от регуляции когнитив-

ных функций и заканчивая контролем процесса разрешения воспаления. Предполагается, что нарушение адекватного эндогенного синтеза NAE является важным звеном в общем механизме формирования системного воспаления при БА. С одной стороны, NAE способны влиять на синтез провоспалительных цитокинов, с другой – они являются субстратом для синтеза липидных сигнальных молекул проразрешающего действия. Подобные эффекты NAE можно использовать для регуляции хронического воспаления, направляя реакцию в сторону разрешения воспалительного процесса. Необходимы дальнейшие испытания противовоспалительных эффектов NAE для установления молекулярного механизма их действия на процессы воспаления при БА.

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

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г., Авдеев С.Н., Айсанов З.Р., Белевский А.С., Васильева О.С., Геппе Н.А., Игнатова Г.Л., Княжеская Н.П., Малахов А.Б., Мещерякова Н.Н., Ненашева Н.М., Фассахов Р.С., Хайтов Р.М., Ильина Н.И., Курбачева О.М., Астафьева Н.Г., Демко И.В., Фомина Д.С., Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А., Вишнева Е.А., Новик Г.А. Бронхиальная астма: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению // Пульмонология. 2022. Т.32, №3. С.393–447. EDN: HZEHSI. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2022-32-3-393-447>
2. Barnig C., Bezema T., Calder P.C., Charloux A., Frossard N., Garssen J., Haworth O., Dilevskaya K., Levi-Schaffer F., Lonsdorfer E., Wauben M., Kraneveld A.D., te Velde A.A. Activation of resolution pathways to prevent and fight chronic inflammation: Lessons from asthma and inflammatory bowel disease // Front. Immunol. 2019. Vol.10. Article number: 1699. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01699>
3. Lecques J.D., Kerr B., Hillyer L.M., Kang J.X., Robinson L.E., Ma D.W. N-3 Polyunsaturated Fatty Acids Ameliorate Neurobehavioral Outcomes Post-Mild Traumatic Brain Injury in the Fat-1 Mouse Model // Nutrients. 2021. Vol.13., Iss.11. Article number: 4092. <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/11/4092>
4. Serhan C. N. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology // Nature. 2014. Vol.510, Iss.7503. P.92–101. <https://www.nature.com/articles/nature13479>
5. Isobe Y., Arita M. Identification of novel omega-3 fatty acid-derived bioactive metabolites based on a targeted lipidomics approach // J. Clin. Biochem. Nutr. 2014. Vol.55, Iss.2. P.79–84. https://www.jstage.jst.go.jp/article/jcbn/55/2/55_14-18/_article
6. Saini R.K., Keum Y.S. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance – A review // Life Sci. 2018. Vol.203. P.255–267. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.049>
7. Blancaflor E.B., Kilaru A., Keereetawee J., Khan B.R., Faure L., Chapman K.D. N-Acylethanolamines: lipid metabolites with functions in plant growth and development // Plant J. 2014. Vol.79, Iss.4. P.568–583. <https://doi.org/10.1111/tpj.12427>
8. Tsuboi K., Uyama T., Okamoto Y., Ueda N. Endocannabinoids and related N-acylethanolamines: biological activities and metabolism // Inflamm. Regen. 2018. Vol.38, Iss.1. P.1–10. <https://doi.org/10.1186/s41232-018-0086-5>
9. Hussain Z., Uyama T., Tsuboi K., Ueda N. Mammalian enzymes responsible for the biosynthesis of N-acylethanolamines // Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell Biol. Lipids. 2017. Vol.1862, Iss.12. P.1546–1561. <https://doi.org/10.1016/j.bbapli.2017.08.006>
10. Guo Y., Uyama T., Rahman S., Sikder M. M., Hussain Z., Tsuboi K., Miyake M., Ueda N. Involvement of the γ Isoform of cPLA2 in the Biosynthesis of Bioactive N-Acylethanolamines // Molecules. 2021. Vol.26, Iss.17. Article

number: 5213. <https://doi.org/10.3390/molecules26175213>

11. Tripathi R.K.P. A perspective review on fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitors as potential therapeutic agents // European Journal of Medicinal Chemistry. 2020. Vol.188. Article number: 111953. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111953>.

12. McDougle D.R., Watson J.E., Abdeen A.A., Adili R., Caputo M.P., Krapf J.E., Johnson R.W., Kilian K.A., Holinstat M., Das A. Anti-inflammatory ω-3 endocannabinoid epoxides // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2017. Vol.114, Iss.30. P.E6034–E6043. <https://doi.org/10.1073/pnas.1610325114>

13. Levy J.M. Endogenous cannabinoids may regulate chronic inflammation in aspirin-exacerbated respiratory disease // World J. Otorhinolaryngol. Head Neck Surg. 2020. Vol.6, Iss.4. P.255–257. <https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2020.07.004>

14. Chanda D., Neumann D., Glatz J. F. C. The endocannabinoid system: Overview of an emerging multi-faceted therapeutic target // Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids. 2019. Vol.140. P.51–56. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.11.016>

15. Денисенко Ю.К., Бочарова Н.В., Коваленко И.С., Новгородцева Т.П. Влияние N-ацил-этаноламина арахидоновой кислоты на синтез цитокинов и оксилипинов лейкоцитами крови пациентов с бронхиальной астмой в условиях *in vitro* // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып. 83. С.15–21. EDN: SEXPIC. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2022-83-15-21>

16. Pacher P., Kogan N. M., Mechoulam R. Beyond THC and endocannabinoids // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2020. Vol.60. P.637–659. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010818-021441>

17. Balvers M.G., Verhoeckx K.C., Meijerink J., Bijlsma S., Rubingh C.M., Wortelboer H.M., Witkamp R.F. Time-dependent effect of *in vivo* inflammation on eicosanoid and endocannabinoid levels in plasma, liver, ileum and adipose tissue in C57BL/6 mice fed a fish-oil diet // Int. Immunopharmacol. 2012. Vol.13, Iss.2. P.204–214. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.03.022>

18. Balvers M.G., Verhoeckx K.C., Plastina P., Wortelboer H.M., Meijerink J., Witkamp R.F. Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid are converted by 3T3-L1 adipocytes to N-acyl ethanolamines with anti-inflammatory properties // Biochim. Biophys. Acta. 2010. Vol.1801, Iss.10. P.1107–1114. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2010.06.006>

19. Meijerink J., Plastina P., Vincken J.P., Poland M., Attya M., Balvers M., Gruppen H., Gabriele B., Witkamp R.F. The ethanolamide metabolite of DHA, docosahexaenoylethanolamine, shows immunomodulating effects in mouse peritoneal and RAW264.7 macrophages: evidence for a new link between fish oil and inflammation // Br. J. Nutr. 2011. Vol.105, Iss.12. P.1798–1807. <https://doi.org/10.1017/S0007114510005635>

20. Watson J.E., Kim J.S., Das A. Emerging class of omega-3 fatty acid endocannabinoids & their derivatives // Prostaglandins & other lipid mediators. 2019. Vol.143. Article number: 106337. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2019.106337>

21. de Bus I., Zuilhof H., Witkamp R., Balvers M., Albada B. Novel COX-2 products of n-3 polyunsaturated fatty acid-ethanolamine-conjugates identified in RAW264.7 macrophages // J. Lipid Res. 2019. Vol.60, Iss.11. P.1829–1840. <https://doi.org/10.1194/jlr.M094235>

22. Kim J., Carlson M. E., Watkins B. A. Docosahexaenoyl ethanolamide improves glucose uptake and alters endocannabinoid system gene expression in proliferating and differentiating C2C12 myoblasts // Front. Physiol. 2014. Vol.5. Article number: 100. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00100>

23. Barnig C., Levy B. D. Innate immunity is a key factor for the resolution of inflammation in asthma // Eur. Respir. Rev. 2015. Vol.24, Iss.135. P.141–153. <https://doi.org/10.1183/09059180.00012514>

REFERENCES

1. Chuchalin A.G., Avdeev S.N., Aisanov Z.R., Belevskiy A.S., Vasil'eva O.S., Geppe N.A., Ignatova G.L., Knyazheskaya N.P., Malakhov A.B., Meshcheryakova N.I., Nenasheva N.M., Fassakhov R.S., Khaitov R.M., Il'ina N.I., Kurbacheva O.M., Astafieva N.G., Demko I.V., Fomina D.S., Namazova-Baranova L.S., Baranov A.A., Vishneva E.A., Novik G.A. [Federal guidelines on diagnosis and treatment of bronchial asthma]. *Pulmonologiya* 2022; 32(3):393–447 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2022-32-3-393-447>
2. Barnig C., Bezema T., Calder P.C., Charloux A., Frossard N., Garssen J., Haworth O., Dilevskaya K., Levi-Schaffer F., Lonsdorfer E., Wauben M., Kraneveld A.D., te Velde A.A. Activation of Resolution Pathways to Prevent and Fight Chronic Inflammation: Lessons From Asthma and Inflammatory Bowel Disease. *Front Immunol.* 2019; 10:1699. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01699>
3. Lecques J. D., Kerr B., Hillyer L. M., Kang J. X., Robinson L. E., Ma D. W. N-3 Polyunsaturated Fatty Acids Ameliorate Neurobehavioral Outcomes Post-Mild Traumatic Brain Injury in the Fat-1 Mouse Model. *Nutrients* 2021; 13(11):4092. <https://doi.org/10.3390/nu13114092>
4. Serhan C. N. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology. *Nature* 2014; 510(7503):92–101. <https://doi.org/10.1038/nature13479>
5. Isobe Y., Arita M. Identification of novel omega-3 fatty acid-derived bioactive metabolites based on a targeted li-

- domics approach. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2014; 55(2):79–84. <https://doi.org/10.3164/jcbn.14-18>
6. Saini R. K., Keum Y. S. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance – A review. *Life Sci.* 2018; 203:255–267. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.049>
7. Blancaflor E.B., Kilaru A., Keeretawee J., Khan B.R., Faure L., Chapman K.D. N-Acylethanolamines: lipid metabolites with functions in plant growth and development. *Plant J.* 2014; 79(4):568–583. <https://doi.org/10.1111/tpj.12427>
8. Tsuboi K., Uyama T., Okamoto Y., Ueda N. Endocannabinoids and related N-acylethanolamines: biological activities and metabolism. *Inflamm. Regen.* 2018; 38:28. <https://doi.org/10.1186/s41232-018-0086-5>
9. Hussain Z., Uyama T., Tsuboi K., Ueda N. Mammalian enzymes responsible for the biosynthesis of N-acylethanolamines. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* 2017; 1862(12):1546–1561. <https://doi.org/10.1016/j.bbapli.2017.08.006>
10. Guo Y., Uyama T., Rahman S., Sikder M. M., Hussain Z., Tsuboi K., Miyake M., Ueda N. Involvement of the γ Isoform of cPLA2 in the Biosynthesis of Bioactive N-Acylethanolamines. *Molecules* 2021; 26(17):5213. <https://doi.org/10.3390/molecules26175213>
11. Tripathi R.K.P. A perspective review on fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitors as potential therapeutic agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2020; 188:111953. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111953>
12. McDougle D. R., Watson J. E., Abdeen A. A., Adili R., Caputo M. P., Krapf J. E., Johnson R. W., Kilian K. A., Holinstat M., Das A. Anti-inflammatory ω -3 endocannabinoid epoxides. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2017; 114(30):E6034–E6043. <https://doi.org/10.1073/pnas.1610325114>
13. Levy J.M. Endogenous cannabinoids may regulate chronic inflammation in aspirin-exacerbated respiratory disease. *World J. Otorhinolaryngol. Head Neck Surg.* 2020; 6(4):255–257. <https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2020.07.004>
14. Chanda D., Neumann D., Glatz J. F. C. The endocannabinoid system: Overview of an emerging multi-faceted therapeutic target. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 2019; 140:51–56. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2018.11.016>
15. Denisenko Yu.K., Bocharova N.V., Kovalenko I.S., Novgorodtseva T.P. [Influence of N-acyl-ethanolamine of arachidonic acid on the synthesis of cytokines and oxylipins by the blood leukocytes of patients with asthma under in vitro conditions]. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhanija = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (83):15–21 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2022-83-15-21>
16. Pacher P., Kogan N.M., Mechoulam R. Beyond THC and Endocannabinoids. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2020; 60:637–659. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010818-021441>
17. Balvers M. G., Verhoeckx K. C., Meijerink J., Bijlsma S., Rubingh C. M., Wortelboer H. M., Witkamp R. F. Time-dependent effect of in vivo inflammation on eicosanoid and endocannabinoid levels in plasma, liver, ileum and adipose tissue in C57BL/6 mice fed a fish-oil diet. *Int. Immunopharmacol.* 2012; 13(2):204–214. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.03.022>
18. Balvers M.G., Verhoeckx K.C., Plastina P., Wortelboer H.M., Meijerink J., Witkamp R.F. Docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid are converted by 3T3-L1 adipocytes to N-acyl ethanolamines with anti-inflammatory properties. *Biochim. Biophys. Acta* 2010; 1801(10):1107–1114. <https://doi.org/10.1016/j.bbapli.2010.06.006>
19. Meijerink J., Plastina P., Vincken J.P., Poland M., Attya M., Balvers M., Gruppen H., Gabriele B., Witkamp R.F. The ethanolamide metabolite of DHA, docosahexaenoylethanolamine, shows immunomodulating effects in mouse peritoneal and RAW264.7 macrophages: evidence for a new link between fish oil and inflammation. *Br. J. Nutr.* 2011; 105(12):1798–1807. <https://doi.org/10.1017/S0007114510005635>
20. Watson J.E., Kim J.S., Das A. Emerging class of omega-3 fatty acid endocannabinoids & their derivatives. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2019; 143:106337. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2019.106337>
21. de Bus I., Zuilhof H., Witkamp R., Balvers M., Albada B. Novel COX-2 products of n-3 polyunsaturated fatty acid-ethanolamine-conjugates identified in RAW264.7 macrophages. *J. Lipid Res.* 2019; 60(11):1829–1840. <https://doi.org/10.1194/jlr.M094235>
22. Kim J., Carlson M.E., Watkins B.A. Docosahexaenoyl ethanolamide improves glucose uptake and alters endocannabinoid system gene expression in proliferating and differentiating C2C12 myoblasts. *Front. Physiol.* 2014; 5:100. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00100>
23. Barnig C., Levy B.D. Innate immunity is a key factor for the resolution of inflammation in asthma. *Eur. Respir. Rev.* 2015; 24(135):141–153. <https://doi.org/10.1183/09059180.00012514>

Информация об авторах:

Иван Сергеевич Коваленко, аспирант, лаборатория биомедицинских исследований, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; e-mail: dr.kovalenko.is@gmail.com

Author information:

Ivan S. Kovalenko, Postgraduate student, Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; e-mail: dr.kovalenko.is@gmail.com

Юлия Константиновна Денисенко, д-р биол. наук, зав. лабораторией биомедицинских исследований, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4130-8899>; e-mail: denisenko.imkvl@gmail.com

Татьяна Павловна Новгородцева, д-р биол. наук, профессор, зам. директора по научной работе, главный научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6058-201X>; e-mail: nauka@niivl.ru

Наталья Владимировна Бочарова, канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория биомедицинских исследований, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; e-mail: natellav@inbox.ru

Ульяна Михайловна Оматова, младший научный сотрудник, лаборатория биомедицинских исследований, Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения; e-mail: u.omatova@ya.ru

Yulia K. Denisenko, PhD, DSc (Biol.), Head of Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; e-mail: denisenko.imkvl@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4130-8899>

Tatiana P. Novgorodtseva, PhD, DSc (Biol.), Professor, Deputy Director on Scientific Work, Main Staff Scientist of Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; e-mail: nauka@niivl.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6058-201X>

Natalia V. Bocharova, PhD (Biol.), Staff Scientist, Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; e-mail: natellav@inbox.ru

Uliana M. Omatova, Junior Staff Scientist, Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment; e-mail: u.omatova@ya.ru

Поступила 12.10.2022
Принята к печати 29.10.2022

Received October 12, 2022
Accepted October 29, 2022

УДК 616.24-08:615.23(005)

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-138-148

АНАЛИЗ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Ли Ефэй, Чжан Вэй, Чен Сюэ, Пан Чэнью

Первая больница Харбинского медицинского университета, отдел респираторной медицины, КНР, 150001,
г. Харбин, район Нэнган, ул. Южненская, 23

РЕЗЮМЕ. В обзоре рассматриваются основные группы лекарственных препаратов, применяемых для лечения бронхиальной астмы (БА) в зависимости от степени тяжести заболевания. Подробно освещены механизмы действия и эффективность приема противоастматических препаратов, их комбинации и побочные эффекты. Особое внимание уделено таргетной терапии биологическими препаратами, действие которых направлено на снижение аллергического и воспалительного ответа у пациентов с тяжелой БА. Такой подход к терапии позволяет изменить естественный ход заболевания, уменьшить воспаление дыхательных путей без побочного повреждения, связанного с глюкокортикоидами (ГКС). Изложенный обзор современных методов медикаментозной терапии, доступных в настоящее время, может быть полезен клиницистам для выбора подходящих стратегий лечения БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, лекарственная терапия.

ANALYSIS OF DRUG THERAPY FOR BRONCHIAL ASTHMA

Li Yefei, Zhang Wei, Chen Xue, Pang Chenyou

The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Department of Respiratory Medicine, 23 Youzheng Str.,
Nangang District, Harbin, 150001, P.R.China

SUMMARY. The review considers the main groups of drugs used to treat bronchial asthma depending on the severity of the disease. The mechanisms of action and effectiveness of taking anti-asthma drugs, their combinations and side effects are covered in detail. Particular attention is paid to targeted therapy with biological drugs, the action of which is aimed at reducing the allergic and inflammatory response in patients with severe asthma. This approach to therapy allows to change the natural course of the disease, reduce airway inflammation without side effects associated with glucocorticosteroids. The review of the current available drug therapies may be useful to clinicians in selecting appropriate strategies for the asthma treatment.

Key words: bronchial asthma, drug therapy.

Бронхиальная астма (БА) относится к гетерогенной группе тяжелых респираторных заболеваний, требующих индивидуальной оценки и лечения. В мире более 330 млн больных БА, у 5-10% больных астма остается плохо контролируемой, несмотря на высокие дозы ингаляционных глюкокортикоидов (ИГКС) с дополнительной контролируемой терапией или без нее, включая бета-2-агонисты длительного действия, мускариновые антагонисты длительного действия, модификаторы лейкотриенов и/или теофиллина. Неконтролируемая БА значительно влияет на повседневную активность, заболеваемость, смертность, качество жизни и предоставление медицинских услуг. Несмотря на значительный прогресс в понимании па-

тогенеза БА, заболевание продолжает вызывать трудности у клиницистов с выбором тактики ведения таких пациентов и назначения лечебной терапии в зависимости от степени тяжести заболевания. Ниже представлены основные группы лекарственных препаратов, применяемых при лечении БА.

Глюкокортикоиды

Ингаляционные ГКС (беклометазон, флутиказон, будесонид, циклесонид) обладают выраженным противовоспалительным действием и являются препаратом выбора для больных с персистирующей БА любой степени тяжести. Они эффективны для улучшения функции внешнего дыхания, снижения гиперреактивности

Контактная информация

Ли Ефэй, врач (магистр), отдел респираторной медицины, Первая больница при Харбинском медицинском университете, 150001, КНР, г. Харбин, район Нэнган, ул. Дажи, 199. E-mail: ly13304560872@163.com

Для цитирования:

Ли Ефэй, Чжан Вэй, Чен Сюэ, Пан Чэнью. Анализ медикаментозной терапии бронхиальной астмы // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.138–148. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-138-148

Correspondence should be addressed to

Li Yefei, Physician (M.Sc.), Department of Respiratory Medicine, Harbin Medical University First Hospital, 199 Dazhi Str., Nangang District, Harbin, 150001, P.R.China. E-mail: ly13304560872@163.com

For citation:

Li Yefei, Zhang Wei, Chen Xue, Pang Chenyou. Analysis of drug therapy for bronchial asthma. *Bületern' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (86):138–148 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-138-148

дыхательных путей, уменьшения выраженности симптомов, снижения частоты и тяжести обострений, улучшения качества жизни пациента. Точная доза ИГКС зависит от степени тяжести заболевания. Исследования показали, что низкие дозы ИГКС эффективно влияют на функцию легких и клинические симптомы у большинства пациентов без побочных системных эффектов [1]. Применение высоких доз ИГКС (>1000 мкг/сут) часто сопряжено с развитием побочных реакций в виде остеопороза, инфекции и задержки роста, особенно у детей. Может наблюдаться реактивация латентного туберкулеза. Системные ГКС (преднизолон, беклометазон) применяют перорально при тяжелом течении БА, когда ингаляционные формы препаратов не улучшают или плохо контролируют симптомы астмы. Для внутривенного введения используют сукцинат метилпреднизолона натрия, сукцинат гидрокортизона или дексаметазон. После достижения контроля астмы пациента переводят на поддерживающую терапию пероральными или ингаляционными ГКС [2].

Бета-2-адреноблокаторы

Бета-2-агонисты (адреномиметики) широко используются как бронходилататоры при купировании приступов БА и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [3, 4]. Действие препаратов основано на расслаблении гладкой мускулатуры бронхов с давлением дегрануляции тучных клеток и высвобождения гистамина, уменьшении капиллярной утечки в дыхательные пути, усилении мукоцилиарного клиренса [5].

По сроку действия бета-2-агонисты могут быть короткодействующими (КДБА, эффект сохраняется в течение 4-6 часов) и пролонгированными, в т.ч. длительно действующими (ДДБА, эффективны в течение 10-12 часов) и ультрадлительного действия (до 24 часов). Сальбутамол и тербуталин относятся к КДБА и используются в клинической практике SABA (Short-acting beta agonists) для купирования симптомов БА. Бета-2-агонисты делят на пероральные и ингаляционные препараты. Пероральные препараты применяют у больных БА, которые не могут использовать ингаляционные препараты. Длительное применение и/или передозировка КДБА может вызывать определенные негативные эффекты, связанные с аритмией, мышечным трепором, желудочно-кишечными реакциями, гипокалиемией и другими побочными реакциями. Препараты подходят для длительного и одноразового использования.

В клинической практике LABA (Long-acting beta agonists) используют ингаляционные ДДБА (салметерол, формотерол). Салметерол является представителем медленно действующих ДДБА. Обычно препарат начинает действовать через 30 минут после применения, но эффект его может сохраняться не менее 12 часов. Формотерол является представителем быстродействующих ДДБА, эффект наступает только через 3-5

минут после применения препарата, ингаляционная доза составляет от 4,5 до 9 мкг, а эффект сохраняется не менее 8-12 часов [6]. ДДБА применяют в комбинации с ГКС. Обычно используются препараты для ингаляций флутиказон/салметерол и будесонид/формотерол. В эксперименте [7] сравнивали эффект комбинации ИГКС/ДДБА и ИГКС/КДБА и обнаружили, что будесонид/формотерол в качестве вспомогательного средства для лечения БА оказывает большее влияние на снижение риска тяжелого течения астмы. Комбинация ИГКС и ДДБА может быть показана пациентам с рефрактерной или другими типами БА для улучшения симптомов заболевания. К пероральным препаратам ДДБА быстрого бронхолитического действия относится кленбутерол. Новый класс бета-2-агонистов ультрадлительного действия (индактерол, вилантерол, олодатерол) позволяет добиться лучшего контроля БА и ХОБЛ за счет повышения приверженности к лечению и длительного бронходилатационного эффекта.

Альфа-адреноблокаторы

Альфа-адреноблокаторы (альфа-АБ), блокирующие разные виды альфа-рецепторов, действуют одинаково, реализуя одни и те же фармакологические эффекты, а отличие при их применении состоит в числе побочных реакций, которых больше у неселективных альфа-1,2-блокаторов [8]. Альфа-АБ могут снимать спазм гладкой мускулатуры, тем самым снижая сопротивление дыхательных путей, дополнительно улучшая вентиляционную способность легких у пациентов и облегчая приступы БА. Этот тип препаратов используется при снижении количества бета-2-адренорецепторов или относительном увеличении альфа-1,2-адренорецепторов. К числу таких препаратов относят фентоламин, который используют в комбинации с бета-2-агонистами для усиления терапевтического эффекта последнего. Применение альфа-АБ позволяет добиться улучшения контроля астмы, особенно при снижении регуляции бета-2-адренорецепторов. Монотерапия фентоламином у определенного контингента пациентов с БА не вызывает миорелаксирующего эффекта после индукции бронхоконстрикции, по сравнению с агонистами бета-2-адренорецепторов [9].

Модификаторы лейкотриенов

Антилейкотриеновые препараты представлены ингибиторами 5-липооксигеназы и антагонистами рецепторов лейкотриенов (ЛТ). Зилеутон – селективный и обратимый ингибитор 5-липооксигеназы, подавляет синтез всех ЛТ. Монтелукаст, пранлукаст и зафирлукаст – антагонисты рецепторов ЛТ, ингибируют цис-ЛТ₁-рецепторы гладкой мускулатуры бронхов и других клеток и, тем самым, угнетают эффекты цис-ЛТ, которые высвобождаются из тучных клеток и эозинофилов. Эти механизмы запускают нерезко выраженное расширение бронхов и уменьшают бронхоконстрикцию,

индуцированную аллергенами, физической нагрузкой и двуокисью серы [10]. Такие препараты часто используются в клинической практике в качестве заменителя ИГКС у пациентов с легкой астмой и в сочетании с салметеролом – у больных астмой средней и тяжелой степени. При сравнении эффекта комбинации антилейкотриеновые препараты/ИГКС и ДДБА/ИГКС при лечении БА показано, что модуляторы ЛТ в качестве адьювантного препарата могут значительно уменьшить симптомы астмы у больных [11]. Препараты обладают хорошей переносимостью и безопасностью. Побочные реакции в основном проявляются в виде желудочно-кишечных реакций, а некоторые в виде сыпи и отеков, и нормализуются после отмены препарата.

Ингибиторы фосфодиэстераз

К группе ингибиторов фосфодиэстераз относятся бронхолитические препараты пролонгированного действия – аминофиллин и теофиллин (производные метилксантина). Применяются перорально или внутривенно. Перорально используется для поддерживающей терапии обострений БА у пациентов с легкой и средней степенью тяжести, внутривенно – при тяжелом течении астмы. Использование теофиллина осложняется его взаимодействием с различными лекарствами и тем фактом, что он имеет узкое терапевтическое окно. Поэтому при применении препаратов теофиллина следует тщательно контролировать его концентрацию в крови на уровне 5–150 мкг/мл, чтобы избежать токсичности [12]. Доксофиллин представляет собой новый тип производных ксантина. Он может не только ингибировать активность фосфодиэстеразы, повышать внутриклеточное содержание циклическогоadenозинмонофосфата (ЦАМФ), расширять гладкую мускулатуру бронхов, снижать интенсивность застоя и отека слизистой оболочки, но также оказывать определенное иммуномодулирующее действие и противовоспалительные эффекты [13, 14]. Применение доксофиллина у больных пожилого возраста с острой БА, по сравнению с аминофиллином, позволяет улучшить клинический эффект лечения и снизить уровень провоспалительных цитокинов. Клинически доксофиллин часто используется в сочетании с ГКС, что приводит к лучшему контролю БА, чем использование только ИГКС.

Антихолинергические средства

Антихолинергические препараты (АХП) – бронхолитики, блокирующие эффект ацетилхолина, высвобождающегося из холинергических нервных окончаний в дыхательных путях. Различают АХП короткого (КД) и длительного действия (ДД). Антихолинергические препараты короткого действия (ипратропий, окситропий) применяются в течение многих лет у пациентов со средней и тяжелой степенью БА для контроля приступов астмы, но широкого распро-

странения не получили из-за того, что в острых ситуациях препараты уступают по бронходилатирующей активности КДБА, а небольшая продолжительность действия не позволяет использовать их в качестве средств поддерживающей терапии [15].

Среди АХПДД наиболее изучен тиотропия бромид. Препарат обладает выраженными противовоспалительными и антиаллергическими свойствами. Применяется для лечения ХОБЛ и тяжелой плохо контролируемой БА. В экспериментальной модели ХОБЛ тиотропий вызывал зависимое от концентрации снижение в бронхоальвеолярном лаваже числа нейтрофилов и уровня цитокинов – IL-6, TNF α , а также ЛТВ4 [16], а в модели аллергической БА угнетал увеличение массы и сократимости гладкой мускулатуры дыхательных путей, снижал аллерген-индуцированную гипертрофию слизистых желез, число бокаловидных клеток и эозинофилию [17]. О потенциальному противовоспалительному эффекте АХП свидетельствует и экспрессия холинергических рецепторов на провоспалительных клетках (лимфоцитах, эозинофилах, тучных клетках). В эксперименте показано, что АХП способны предотвращать ремоделирование дыхательных путей при БА у человека [18, 19]. Медленная диссоциация из связи с M1- и M3-рецепторами обусловливает длительность действия тиотропия (в течение 24 часов) и возможность однократного введения в сутки, что значительно повышает приверженность пациентов к лечению [20]. При этом эффект препарата развивается достаточно быстро, что обусловлено преимущественно местным (дыхательные пути), а не системным действием. Низкая степень всасывания со слизистой оболочки дыхательных путей (менее 20%) обеспечивает тиотропию достаточно высокую безопасность, связанную с низким риском развития системных побочных эффектов [21]. Единственный побочный эффект, который чаще встречается при использовании тиотропия в относительно высоких дозах, чем при применении плацебо, это сухость во рту [22].

Антитела к IgE

Омализумаб представляет собой гуманизированное рекомбинантное мышью моноклональное антитело против человеческого иммуноглобулина (Ig) E, которое используется у пациентов с тяжелой неконтролируемой БА [23]. Препарат ингибитирует связывание IgE с высокоаффинными рецепторами IgE (Fc ϵ RI), расположенными на поверхности тучных клеток и базофилов, уменьшая экспрессию рецепторов IgE на воспалительных клетках [24]. Применение омализумаба значительно улучшает качество жизни, а также позволяет пациентам сократить прием ИГКС, не увеличивая при этом вероятность возникновения неблагоприятных эффектов. Омализумаб также может использоваться в качестве адьювантной терапии при аллергических заболеваниях [25–27]. Долгосрочное лечение омализумабом безопасно, тяжелых побочных эффектов от при-

менения препарата нет. Однако имеют место такие состояния, как назофарингит, экзема, угревая сыпь, крапивница, артриты, миалгии. Побочные эффекты меполизумаба не зависят от длительности его приема и в большинстве случаев не ограничивают его применение среди пациентов всех возрастных групп.

Ингибиторы интерлейкина 5

Меполизумаб и реслизумаб представители ингибиторов IL-5, а бенрализумаб – блокатор альфа рецепторов IL-5. Биологические препараты используются для лечения тяжелой эозинофильной БА. Меполизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело, направленное против IL-5 человека с высоким сродством и специфичностью. Препарат блокирует связывание IL-5 с рецепторами на клеточной мембране эозинофилов и их предшественников (CD34+), подавляя передачу сигнала с последующим уменьшением продукции и выживаемости эозинофилов, снижением их функциональной активности [28]. Рецептор (R) IL-5 состоит из индивидуальной субъединицы альфа (α) (CD125+) и субъединицы бета (β) с (CD131+), которая является общей молекулой для передачи сигналов от рецепторов IL-5, IL-3 и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора [29]. Несмотря на общий функциональный рецептор R β c, действие IL-5 не совпадает полностью с действием других цитокинов. После специфического связывания IL-5 с R α функциональная субъединица R β реализует проведение сигнала с комплекса IL-5R α /IL-5 и активирует сложную сеть внутриклеточных сигнальных путей [30]. Происходит фосфорилирование тирозина различных клеточных белков (киназ и факторов транскрипции, включая JAK1, JAK2, STAT5, Raf-1), которые в свою очередь активируют дальнейшие внутриклеточные сигнальные каскады, приводящие к функциональным изменениям эозинофилов [28], сигнальные пути Raf/MEK/ERK и JAK/STAT, предотвращают апоптоз эозинофилов, что увеличивает срок их жизни.

В результате сравнительного анализа 11 исследований эффективности меполизумаба, бенрализумаба и реслизумаба с учетом выраженности периферической эозинофилии у пациентов с тяжелой БА [31] отмечено, что при аналогичном уровне эозинофилов крови лечение меполизумабом сопровождалось достоверным уменьшением числа клинически значимых обострений на 34–45% по сравнению с бенрализумабом, и на 45% по сравнению с реслизумабом. Меполизумаб позволял лучше контролировать астму, чем бенрализумаб. Бенрализумаб обеспечивал более значительное улучшение легочной функции, чем реслизумаб.

Накопленные данные свидетельствуют, что применение меполизумаба или бенрализумаба для лечения тяжелой эозинофильной БА эффективно контролирует ее проявления, снижая риск рецидива, что позволяет уменьшить дозу ГКС [32] и повысить качество жизни

пациентов с БА [33].

БЦЖ

Основными компонентами вакцины БЦЖ (бациллы Кальметта-Герена) являются липиды, полисахариды, белки и нуклеиновые кислоты, среди которых важным иммуномодулирующим эффектом обладают полисахариды и нуклеиновые кислоты. БЦЖ-полисахарид нуклеиновой кислоты (ПСН) – препарат, используемый при лечении БА. Исследования показали, что БЦЖ и БЦЖ-ПСН могут ингибировать выработку антиген-специфического IgE, значительно уменьшать эозинофильное воспаление и ингибировать гиперреактивность дыхательных путей при моделировании асмы у животных [34]. В клинических условиях БЦЖ используется только в качестве адьювантного препарата. В последние годы появились доказательства терапевтической эффективности препарата БЦЖ-ПСН у пациентов с БА. Механизм действия БЦЖ-ПСН до конца не изучен. По некоторым данным введение препарата пациентам с БА вызывает изменение экспрессии костимулирующих молекул на поверхности дендритных клеток, способствует их созреванию и миграции в лимфатические узлы и селезенку с последующей презентацией БЦЖ эфекторным иммунным клеткам [35]. В результате повышался уровень Th1-цитокинов, снижался уровень IgE и IL-5, что приводило к снижению интенсивности симптомов БА. Дальнейшее исследование эффективности БЦЖ-ПСН может улучшить перспективы клинического применения препарата в лечении БА.

Антибиотики

Принято считать, что антибактериальных препаратов оказывают значимое влияние на обострение БА при наличии клиники инфекционного воспаления. Наиболее часто в клинической практике используют макролиды (азитромицин, рокситромицин), что связывают с их выраженным противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами [36]. Макролидные антибиотики обладают антineйтрофильным действием, угнетая цитокиновый ответ (IL-8, TNF α) и стимулируя апоптоз. Экспериментально показано их участие в дегрануляции нейтрофилов, стимуляции фагоцитоза альвеолярных макрофагов и увеличении популяции лимфоцитов, но механизм плохо изучен [37]. Макролиды вызывают увеличение транsepителиального электрического сопротивления эпителия дыхательных путей, изменяя процессинг белков плотных контактов [38], что уменьшает образование, вязкость и секрецию слизи и улучшает функцию легких [39].

В рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании показано, что применение азитромицина у пациентов вызывало снижение тяжелых обострений БА [40]. Аналогичные результаты были получены при использовании комбинации рокситромицина/БЦЖ, в отличие от монотерапии рокситромицином, которая

имела менее выраженный терапевтический эффект [41]. Рекомендации по лечению астмы в настоящее время не включают использование макролидных антибиотиков [42]. Из-за достаточно ограниченного количества клинических данных пока невозможно определить, какие больные БА наиболее подходят для антибактериальной терапии. Возможно, что это будут пациенты с неэозинофильной астмой или со сниженной чувствительностью к ГКС [43].

Антигистаминные и другие противоаллергические препараты

Механизм действия антигистаминных препаратов при лечении БА до сих пор неясен. Антигистаминные препараты используют в основном для лечения аллергической БА легкой и средней степени тяжести и сочетанного аллергического ринита [44]. Ограниченност их применения вызвана побочным седативным эффектом.

В настоящее время часто при лечении аллергической БА назначают неседативные H1-антигистаминные препараты второго поколения, к которым относят цетиризин, левоцетиризин и биластин [45]. Цетиризин и левоцетиризин оказывают легкий седативный эффект, у биластина седация отсутствует. Преимуществом в лечении противоаллергическими средствами является снижение сопротивления дыхательных путей и улучшение бронхиальной проходимости. Однако механизм их действия подлежит дальнейшему изучению. Также при лечении БА показано возможно комбинированное применение антигистаминных препаратов и ГКС. В клиническом исследовании применение комбинации цетиризин/будесонид у детей с обострением БА выявило значительный терапевтический эффект, который проявлялся в быстром купировании приступов астмы [46]. Также отмечено снижение воспалительных реакций и улучшение функции легких.

Иммуномодуляторы

К иммуномодулирующим препаратам при лечении аллергической и стероидрезистентной БА относят циклоспорин А и метотрексат. Циклоспорин ингибирует активность кальцинейрина, что приводит к нарушению продукции IL-2, IL-3, IL-4, TNF α и других воспалительных цитокинов, и тем самым, инактивации активированных Т-лимфоцитов [47]. IL-4 участвует в выработке IgE, в связи с этим циклоспорин может ингибировать опосредованное IgE высвобождение гистамина из дегранулированных тучных клеток [48], а также мобилизацию и активацию эозинофилов [49]. Применение циклоспорина А сопровождается значительным снижением выраженности симптомов обострения БА, рекрутации лейкоцитов в очаг воспаления, развития патологии тканей и гиперреактивности дыхательных путей. Несмотря на эффективность использования препарата в лечении БА, его применение ограничено низкой безопасностью для пациентов в

связи с высокой нефротоксичностью.

Метотрексат является антагонистом фолиевой кислоты и используется для лечения стероидрезистентной БА [50]. Метотрексат ингибирует рекрутацию нейтрофильных гранулоцитов в область воспаления, функцию тучных клеток, активацию базофильных гранулоцитов и макрофагов [51]. У пациентов с тяжелой БА метотрексат может снизить дозу пероральных глюкокортикоидов на 35% без потери контроля за заболеванием. Тем не менее применение препарата следует тщательно контролировать, чтобы избежать возникновения тяжелых побочных эффектов. К основным побочным эффектам относятся: легкие желудочно-кишечные реакции и головные боли, возможны кожная сыпь и нарушение функции печени; у небольшого числа пациентов могут возникать серьезные побочные эффекты, такие как фиброз легких и фиброз печени, угнетение костномозгового кроветворения, снижение иммунитета, инфицирование пневмоцистной и пневмоцистной пневмонией.

Кальцелитики

Ингаляционные антагонисты рецептора, чувствительного к кальцию (CaSR) (кальцелитики), являются новыми препаратами для лечения аллергической и стероидрезистентной БА. Действие препарата основано на блокировании эффектов, связанных с мобилизацией внутриклеточного кальция, распада цАМФ и фосфорилирования митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) p38 в гладкомышечных клетках дыхательных путей, участвующих в формировании гиперреактивности и ремоделирования дыхательных путей [52]. Согласно исследованию [53], применение кальцелитиков у больных БА значительно снижало экспрессию CaSR в дыхательных путях. В настоящее время неизвестно, является ли гиперэкспрессия CaSR и/или его реакция на кальцилитики одинаковой для различных клинических проявлений БА, особенно с учетом понимания того, что тяжелая астма может различаться по патофизиологическим механизмам и реакции на стандартную фармакотерапию. Несмотря на это вполне вероятно, что кальцилитики могут воздействовать на совершенно новую терапевтическую мишень в лечении БА.

Заключение

Несмотря на значительный прогресс в понимании патофизиологии и фармакотерапии БА, заболевание остается глобальным бременем для здравоохранения во всем мире. Хотя симптомы астмы поддаются контролю у большинства больных с легкой и среднетяжелой БА с помощью стандартной терапии, такой как местные бронходилляторы и ГКС, их эффективное введение затруднительно и возможно развитие нежелательных побочных эффектов. Остается значительное количество пациентов с неконтролируемой тяжелой БА, которые сталкиваются с проблемой неэффективности стандартной фармакотерапии, что сочетается с

хроническим ухудшением качества жизни, повышенным риском госпитализации и летальности.

Решение проблемы контролируемости заболевания возможно при использовании научного подхода к лечению и профилактике обострений БА, требующих использования эффективных медикаментозных средств и способов их доставки. Также требуется разработка режимов ведения пациентов и длительности лечения БА.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и潛итиальных конфликтов 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. Dhar R., Talwar D., James P., Mishra A., Vachaparambil J., Patil S., Khatri N., Bhagat, S., Barkate H. ICS/Ultra LABA in the Treatment of Obstructive Airway Diseases: A Consensus of Indian Experts // Adv. Respir. Med. 2022. Vol.90, Iss.5. P.407–424. <https://doi.org/10.3390/arm90050051>
2. Ramsahai J.M., Wark P.A.B. Appropriate use of oral corticosteroids for severe asthma // Med. J. Aust. 2018. Vol.209, Iss.52. P.18–21. <https://doi.org/10.5694/mja18.00134>
3. Knox A.J., Mortimer K. Combining inhaled glucocorticoids and long acting beta (2)-adrenoceptor agonists in asthma and COPD // Br. J. Pharmacol. 2008. Vol.153, Iss.6. P.1085–1086. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.4>
4. Batrakova E., Kartashova O., Babaskina L., Pashanova O. Effect of combined glucocorticoid therapy on bronchial asthma dynamics // Allergol. Immunopathol. (Madr). 2022. Vol.50, Iss.1. P.68–74. <https://doi.org/10.15586/aei.v50i1.481>
5. Ogawa K., Tanaka S., Limin Y., Arata N., Sago H., Yamamoto-Hanada K., Narita M., Ohya Y. Beta-2 receptor agonist exposure in the uterus associated with subsequent risk of childhood asthma // Pediatr. Allergy Immunol. 2017. Vol.28, Iss.8. P.746–753. <https://doi.org/10.1111/pai.12805>
6. Joshi T., Johnson M., Newton R., Giembycz M.A. The long-acting β2-adrenoceptor agonist, indacaterol, enhances glucocorticoid receptor-mediated transcription in human airway epithelial cells in a gene- and agonist-dependent manner // Br. J. Pharmacol. 2015. Vol.172, Iss.10. P.2634–2653. <https://doi.org/10.1111/bph.13087>
7. Baggott C., Hardy J., Sparks J., Holliday M., Hall D., Vohlidkova A., Hancox R.J., Weatherall M., Fingleton J., Beasley R. PRACTICAL Study Team. Self-titration of inhaled corticosteroid and β2-agonist in response to symptoms in mild asthma: a pre-specified analysis from the PRACTICAL randomised controlled trial // Eur. Respir. J. 2020. Vol.56, Iss.4. Article number: 2000170. <https://doi.org/10.1183/13993003.00170-2020>
8. Islami H., Krasniqi S., Ahmetaj H., Haliti N., Kurtishi I., Ahmetaj S., Ibrahim I. Phentolamine action in permeability of airways at patients with bronchial asthma // Med. Arh. 2011. Vol.65, Iss.1. P.4–8. PMID: 21534442.
9. Islami P., Ilazi A., Jakupi A., Bexheti S., Islami H. Importance of alpha-adrenergic receptor subtypes in regulating of airways tonus at patients with bronchial asthma // Acta Inform. Med. 2014. Vol.22, Iss.3. P.174–178. <https://doi.org/10.5455/aim.2014.22.174-178>
10. Han R.F., Li H.Y., Wang J.W., Cong X.J. Study on clinical effect and immunologic mechanism of infants capillary bronchitis secondary bronchial asthma treated with bacterial lysates Broncho-Vaxom // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2016. Vol.20, Iss.10. P.2151–2155. PMID: 27249617.
11. Manoharan A., Morrison A.E., Lipworth B.J. Effects of adding tiotropium or aclidinium as triple therapy using impulse oscillometry in COPD // Lung. 2016. Vol.194, Iss.2. P.259–266. <https://doi.org/10.1007/s00408-015-9839-y>
12. Chen Z.C., Ding J.J., Qian H.Y., Lin X.H., Feng K.Q., Wang J. Clinical efficacies of inhaled corticosteroids plus theophylline in the treatment of bronchial asthma // Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2013. Vol.93, Iss.14. P.1076–1079. PMID: 23902840.
13. Calzetta L., Matera M.G., Goldstein M.F., Fairweather W.R., Howard W.W., Cazzola M., Rogliani P. A long-term clinical trial on the efficacy and safety profile of doxofylline in Asthma: The LESDA study // Pulm. Pharmacol. Ther. 2020. Vol.60. Article number: 101883. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2019.101883>
14. Page C.P. Doxofylline: a "novofylline" // Pulm. Pharmacol. Ther. 2010. Vol.23, Iss.4. P.231–234. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.04.002>
15. Qin J., Wang G., Han D. Benefits of LAMA in patients with asthma-COPD overlap: A systematic review and meta-analysis // Clin. Immunol. 2022. Vol.237. Article number: 108986. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2022.108986>
16. Wollin L., Pieper M. Tiotropiumbromide exerts anti-inflammatory activity in a cigarette smoke mouse model of COPD // Pulm. Pharmacol. Ther. 2010. Vol.23, Iss.4. P.345–354. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.03.008>
17. Bos I., Gosens R., Zuidhof A., Schaafsma D., Halayko A.J., Meurs H., Zaagsma J. Inhibition of allergen-induced airway remodelling by tiotropium and budesonide: a comparison // Eur. Respir. J. 2007. Vol.30, Iss.4. P.653–661. <https://doi.org/10.1183/09031936.00004907>
18. Gosens R., Bos I.S.T., Zaagsma J., Meurs H. Protective effects of tiotropium bromide in the progression of airway

- smooth muscle remodeling // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2005. Vol.171, Iss.10. P.1096–1102. <https://doi.org/10.1164/rccm.200409-1249OC>
19. Restrepo R.D. Use of inhaled anticholinergic agents in obstructive airway disease // Respir. Care 2007. Vol.52, Iss.7. P.833–851. PMID: 17594728
20. Brown S.M., Koarai A., Sturton R.G., Nicholson A.G., Barnes P.J., Donnelly L.E. A role for M(2) and M(3) muscarinic receptors in the contraction of rat and human small airways // Eur. J. Pharmacol. 2013. Vol.702, Iss.1-3. P.109–115. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.01.054>
21. Befekadu E., Onofrei C., Colice G.L. Tiotropium in asthma: a systematic review // J. Asthma Allergy. 2014. Vol.27, Iss.7. P.11–21. <https://doi.org/10.2147/JAA.S38841>
22. Vogelberg C., Engel M., Moroni-Zentgraf P., Leonaviciute-Klimantaviciene M., Sigmund R., Downie J., Nethling K., Vevere V., Vandewalker M. Tiotropium in asthmatic adolescents symptomatic despite inhaled corticosteroids: a randomised dose-ranging study // Respir. Med. 2014. Vol.108, Iss.9. P.1268–1276. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2014.06.011>
23. Schulman E.S. Development of a monoclonal anti-immunoglobulin E antibody (omalizumab) for the treatment of allergic respiratory disorders // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001. Vol.164, Iss.8(Pt2). S6–S11. https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.supplement_1.2103025
24. Pereira Santos M.C., Campos Melo A., Caetano A., Caiado J., Mendes A., Pereira Barbosa M., Branco Ferreira M. Longitudinal study of the expression of Fc ϵ RI and IgE on basophils and dendritic cells in association with basophil function in two patients with severe allergic asthma treated with omalizumab // Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol. 2015. Vol.47, Iss.2. P.38–40. PMID: 25781192
25. Dantzer J.A., Wood R.A. Omalizumab as an adjuvant in food allergen immunotherapy // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 2021. Vol.21, Iss.3. P.278–285. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000736>
26. Tampouratzi L., Kanni T., Katsantonis J., Douvali T. Maculopapular cutaneous mastocytosis successfully treated with omalizumab // Acta Dermatovenerol. Croat. 2021. Vol.291, Iss.1. P.60–61. PMID: 34477069.
27. Ermertcan A.T., Aktaş A., Öztürk F., Temiz P. Urticular vasculitis successfully treated with omalizumab // Cutis. 2021. Vol.107, Iss.5. E19–E21. <https://doi.org/10.12788/cutis.0272>
28. Takatsu K. Interleukin-5 and IL-5 receptor in health and diseases // Proc. Jpn Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci. 2011. Vol.87, Iss.8. P.463–485. <https://doi.org/10.2183/pjab.87.463>
29. Yoshimura-Uchiyama C., Yamaguchi M., Nagase H., Matsushima K., Igarashi T., Iwata T., Yamamoto K., Hirai K. Changing expression of IL-3 and IL-5 receptors in cultured human eosinophils // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. Vol.309, Iss.1. P.26–31. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)01526-2](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)01526-2)
30. Molino N.A., Gossage D., Kolbeck R., Parker J.M., Geba G.P. Molecular and clinical rationale for therapeutic targeting of interleukin-5 and its receptor // Clin. Exp. Allergy. 2012. Vol.42, Iss.5. P.712–737. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2011.03854.x>
31. Busse W., Chupp G., Nagase H., Albers F.C., Doyle S., Shen Q., Bratton D.J., Gunsoy N.B. Anti-IL-5 treatments in patients with severe asthma by blood eosinophil thresholds: Indirect treatment comparison // J. Allergy Clin. Immunol. 2019. Vol.143, Iss.6. Article number: 2336. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.08.031>
32. Hillas G., Fouka E., Papaioannou A.I. Antibodies targeting the interleukin-5 signaling pathway used as add-on therapy for patients with severe eosinophilic asthma: a review of the mechanism of action, efficacy, and safety of the subcutaneously administered agents, mepolizumab and benralizumab // Expert Rev. Respir. Med. 2020. Vol.14, Iss.4. P.353–365. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1718495>
33. Haldar P., Brightling C.E., Hargadon B., Gupta S., Monteiro W., Sousa A., Marshall R.P., Bradding P., Green R.H., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma // N. Engl. J. Med. 2011. Vol.364, Iss.6. Article number: 588. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808991>
34. Yang W., Dong Z., Li Y., Zhang Y., Fu H., Xie Y. Therapeutic efficacy of chitosan nanoparticles loaded with BCG-polysaccharide nucleic acid and ovalbumin on airway inflammation in asthmatic mice // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2021. Vol.40, Iss.8. P.1623–1631. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04183-9>
35. Zhou Y. The clinical effect of BCG polysaccharide nucleic acid and live attenuated BCG on asthma and its effect on the level of serum cytokines and immune cells // Medical Innovation of China. 2020, Vol.17, Iss.5. P.101–104. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-4985.2020.05.026>
36. Badovinac M., Nadrah K., Harlander M. Role of macrolide antibiotics in the treatment of chronic pulmonary diseases // Zdrav. Vestn. 2020. Vol.89, Iss.7-8. P.446–457. <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.2955>
37. Altenburg J., de Graaff C.S., van der Werf T.S., Boersma W.G. Immunomodulatory effects of macrolide antibiotics – part 1: biological mechanisms // Respiration. 2011. Vol.81, Iss.1. P.67–74. <https://doi.org/10.1159/000320319>
38. Asgrimsson V., Gudjonsson T., Gudmundsson G.H., Baldursson O. Novel effects of azithromycin on tight junction proteins in human airway epithelia // Antimicrob. Agents Chemother. 2006. Vol.50, Iss.5. P.1805–1812. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.5.1805-1812.2006>
39. Tojima I., Shimizu S., Ogawa T., Kouzaki H., Omura S., Sunazuka T., Shimizu T. Anti-inflammatory effects of a

novel non-antibiotic macrolide, EM900, on mucus secretion of airway epithelium // *Auris. Nasus. Larynx.* 2015. Vol.42, Iss.4. P.332–336. <https://doi.org/10.1016/j.anl.2015.02.003>

40. Gibson P.G., Yang I.A., Upham J.W., Reynolds P.N., Hodge S., James A.L., Jenkins C., Peters M.J., Marks G.B., Baraket M., Powell H., Taylor S.L., Leong LEX, Rogers G.B., Simpson J.L. Effect of azithromycin on asthma exacerbations and quality of life in adults with persistent uncontrolled asthma (AMAZES): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial // *Lancet.* 2017. Vol.390, Iss.10095. P.659–668. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31281-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31281-3)

41. Yang W., Dong Z., Li Y., Zhang Y., Fu H., Xie Y. Therapeutic efficacy of chitosan nanoparticles loaded with BCG-polysaccharide nucleic acid and ovalbumin on airway inflammation in asthmatic mice // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2021. Vol.40, Iss.8. P.1623–1631. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04183-9>

42. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (Update 2019). URL: <http://www.ginasthma.org/>

43. Esteban-Gorgojo I., Antolín-Amérigo D., Domínguez-Ortega J., Quirce S. Non-eosinophilic asthma: current perspectives // *J. Asthma Allergy.* 2018. Iss.11. P.267–281. <https://doi.org/10.2147/JAA.S153097>

44. Nakao R., Yamamoto S., Yasumoto Y., Oishi K. Dosing schedule-dependent attenuation of dexamethasone-induced muscle atrophy in mice // *Chronobiol. Int.* 2014. Vol.31, Iss.4. P.506–514. <https://doi.org/10.3109/07420528.2013.872654>

45. Recto, M.T., Gabriel, M.T., Kulthan, K., Tantilipikorn P., Aw D.C., Lee T.H., Chwen C.C., Mutusamy S., Hao N.T., Quang V.T., Canonica G.W. Selecting optimal second-generation antihistamines for allergic rhinitis and urticaria in Asia // *Clin. Mol. Allergy.* 2017. Vol.15. Article number: 19. <https://doi.org/10.1186/s12948-017-0074-3>

46. Fang L. Effects of cetirizine drops combined with budesonide inhaler on pulmonary function in children with acute asthma // *Journal of Clinical Medicine in Practice.* 2020. Vol.24, Iss.3. P.87–89 <https://doi.org/10.7619/jcmp.202003025>

47. Matsuda S., Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine // *Immunopharmacology.* 2000. Vol.47, Iss.2-3. P.119–125. [https://doi.org/10.1016/S0162-3109\(00\)00192-2](https://doi.org/10.1016/S0162-3109(00)00192-2)

48. Harrison C.A., Bastan R., Peirce M.J., Munday M.R., Peachell P.T. Role of calcineurin in the regulation of human lung mast cell and basophil function by cyclosporine and FK506 // *Br. J. Pharmacol.* 2007. Vol.150, Iss.4. P.509–518. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707002>

49. Stemmy E.J., Balsley M.A., Jurus R.A., Damsker J.M., Bukrinsky M.I., Constant S.L. Blocking cyclophilins in the chronic phase of asthma reduces the persistence of leukocytes and disease reactivation // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011. Vol.45, Iss.5. P.991–998. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2011-0007OC>

50. Bilocca D., Hargadon B., Pavord I.D., Green R.H., Brightling C.E., Bradding P., Wardlaw A.J., Martin N., Murphy A.C., Siddiqui S. The role of oral methotrexate as a steroid sparing agent in refractory eosinophilic asthma // *Chron. Respir. Dis.* 2018. Vol.15, Iss.1. P.85–87. <https://doi.org/10.1177/1479972317709650>

51. Knarborg M., Hilberg O., Dahl R. Methotrexate may be a useful corticosteroid reducing treatment of severe asthma // *Ugeskr. Laeger.* 2014. Vol.176, Iss.15. Article number: 10130598. PMID: 25350142.

52. Yarova P.L., Stewart A.L., Sathish V., Britt R.D. Jr, Thompson M.A., P Lowe A.P., Freeman M., Aravamudan B., Kita H., Brennan S.C., Schepelmann M., Davies T., Yung S., Cholisoh Z., Kidd E.J., Ford W.R., Broadley K.J., Rietdorf K., Chang W., Bin Khayat M.E., Ward D.T., Corrigan C.J., T Ward J.P., Kemp P.J., Pabelick C.M., Prakash Y.S., Riccardi D. Calcium-sensing receptor antagonists abrogate airway hyperresponsiveness and inflammation in allergic asthma // *Sci. Transl. Med.* 2015. Vol.7, Iss.284. Article number: 284ra60. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa0282>

53. Corrigan C.J. Calcilytics: a non-steroidal replacement for inhaled steroid and SABA/LABA therapy of human asthma? // *Expert Rev. Respir. Med.* 2020. Vol.14, Iss.8. P.807–816. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1756779>

REFERENCES

1. Dhar R., Talwar D., James P., Mishra A., Vachaparambil J., Patil S., Khatri N., Bhagat, S., Barkate H. ICS/Ultra LABA in the Treatment of Obstructive Airway Diseases: A Consensus of Indian Experts. *Adv. Respir. Med.* 2022; 90(5):407–424. <https://doi.org/10.3390/arm90050051>
2. Ramsahai J.M., Wark P.A. Appropriate use of oral corticosteroids for severe asthma. *Med. J. Aust.* 2018; 209(52):18–21. <https://doi.org/10.5694/mja18.00134>
3. Knox A.J., Mortimer K. Combining inhaled glucocorticoids and long acting beta(2)-adrenoceptor agonists in asthma and COPD. *Br. J. Pharmacol.* 2008; 153(6):1085–1086. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.4>
4. Batrakova E., Kartashova O., Babaskina L., Pashanova O. Effect of combined glucocorticoid therapy on bronchial asthma dynamics. *Allergol. Immunopathol. (Madr)* 2022; 50(1):68–74. <https://doi.org/10.15586/aei.v50i1.481>
5. Ogawa K., Tanaka S., Limin Y., Arata N., Sago H., Yamamoto-Hanada K., Narita M., Ohya Y. Beta-2 receptor agonist exposure in the uterus associated with subsequent risk of childhood asthma. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2017; 28(8):746–753. <https://doi.org/10.1111/pai.12805>
6. Joshi T., Johnson M., Newton R., Giembycz M.A. The long-acting β2-adrenoceptor agonist, indacaterol, enhances glucocorticoid receptor-mediated transcription in human airway epithelial cells in a gene- and agonist-dependent manner. *Br. J. Pharmacol.* 2015; 172(10):2634–2653. <https://doi.org/10.1111/bph.13087>

7. Baggott C., Hardy J., Sparks J., Holliday M., Hall D., Vohlidkova A., Hancox R.J., Weatherall M., Fingleton J., Beasley R. PRACTICAL Study Team. Self-titration of inhaled corticosteroid and β_2 -agonist in response to symptoms in mild asthma: a pre-specified analysis from the PRACTICAL randomised controlled trial. *Eur. Respir. J.* 2020; 56(4):2000170. <https://doi.org/10.1183/13993003.00170-2020>
8. Islami H., Krasniqi S., Ahmetaj H., Haliti N., Kurtishi I., Ahmetaj S., Ibrahim I. Phentolamine action in permeability of airways at patients with bronchial asthma. *Med. Arh.* 2011; 65(1):4–8. PMID: 21534442.
9. Islami P., Ilazi A., Jakupi A., Bexheti S., Islami H. Importance of alpha-adrenergic receptor subtypes in regulating of airways tonus at patients with bronchial asthma. *Acta Inform. Med.* 2014; 22(3):174–178. <https://doi.org/10.5455/aim.2014.22.174-178>
10. Han R.F., Li H.Y., Wang J.W., Cong X.J. Study on clinical effect and immunologic mechanism of infants capillary bronchitis secondary bronchial asthma treated with bacterial lysates Broncho-Vaxom. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016; 20(10):2151–2155. PMID: 27249617.
11. Manoharan A., Morrison A.E., Lipworth B.J. Effects of adding tiotropium or aclidinium as triple therapy using impulse oscillometry in COPD. *Lung* 2016; 194(2):259–266. <https://doi.org/10.1007/s00408-015-9839-y>
12. Chen Z.C., Ding J.J., Qian H.Y., Lin X.H., Feng K.Q., Wang J. [Clinical efficacies of inhaled corticosteroids plus theophylline in the treatment of bronchial asthma]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2013; 93(14):1076–1079 (in Chinese). PMID: 23902840.
13. Calzetta L., Matera M.G., Goldstein M.F., Fairweather W.R., Howard W.W., Cazzola M., Rogliani P. A long-term clinical trial on the efficacy and safety profile of doxofylline in Asthma: The LESDA study. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2020; 60:101883. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2019.101883>
14. Page C.P. Doxofylline: a "novofylline". *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2010; 23(4):231–234. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.04.002>
15. Qin J., Wang G., Han D. Benefits of LAMA in patients with asthma-COPD overlap: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Immunol.* 2022; 237:108986. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2022.108986>
16. Wollin L., Pieper M. Tiotropiumbromide exerts anti-inflammatory activity in a cigarette smoke mouse model of COPD. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2010; 23(4):345–354. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.03.008>
17. Bos I., Gosens R., Zuidhof A., Schaafsma D., Halayko A.J., Meurs H., Zaagsma J. Inhibition of allergen-induced airway remodelling by tiotropium and budesonide: a comparison. *Eur. Respir. J.* 2007; 30(4):653–661. <https://doi.org/10.1183/09031936.00004907>
18. Gosens R., Bos I.S.T., Zaagsma J., Meurs H. Protective effects of tiotropium bromide in the progression of airway smooth muscle remodeling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 171(10):1096–1102. <https://doi.org/10.1164/rccm.200409-1249OC>
19. Restrepo R.D. Use of inhaled anticholinergic agents in obstructive airway disease. *Respir. Care* 2007; 52(7):833–851. PMID: 17594728
20. Brown S.M., Koarai A., Sturton R.G., Nicholson A.G., Barnes P.J., Donnelly L.E. A role for M(2) and M(3) muscarinic receptors in the contraction of rat and human small airways. *Eur. J. Pharmacol.* 2013; 702(1-3):109–115. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.01.054>
21. Befekadu E., Onofrei C., Colice G.L. Tiotropium in asthma: a systematic review. *J. Asthma Allergy* 2014; 27(7):11–21. <https://doi.org/10.2147/JAA.S38841>
22. Vogelberg C., Engel M., Moroni-Zentgraf P., Leonaviciute-Klimantaviciene M., Sigmund R., Downie J., Nething K., Vevere V., Vandewalker M. Tiotropium in asthmatic adolescents symptomatic despite inhaled corticosteroids: a randomised dose-ranging study. *Respir. Med.* 2014; 108(9):1268–1276. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2014.06.011>
23. Schulman E.S. Development of a monoclonal anti-immunoglobulin E antibody (omalizumab) for the treatment of allergic respiratory disorders. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001; 164(8) (Pt2): S6–S11. https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.supplement_1.2103025
24. Pereira Santos M.C., Campos Melo A., Caetano A., Caiado J., Mendes A., Pereira Barbosa M., Branco Ferreira M. Longitudinal study of the expression of Fc ϵ RI and IgE on basophils and dendritic cells in association with basophil function in two patients with severe allergic asthma treated with omalizumab. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 47(2):38–40. PMID: 25781192
25. Dantzer J.A., Wood R.A. Omalizumab as an adjuvant in food allergen immunotherapy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2021; 21(3):278–285. <https://doi.org/10.1097/ACI.0000000000000736>
26. Tampouratzi L., Kanni T., Katsantonis J., Douvali T. Maculopapular cutaneous mastocytosis successfully treated with omalizumab. *Acta Dermatovenerol. Croat.* 2021; 29(1):60–61. PMID: 34477069.
27. Ermertcan A.T., Aktaş A., Öztürk F., Temiz P. Urticular vasculitis successfully treated with omalizumab. *Cutis* 2021; 107(5):E19–E21. <https://doi.org/10.12788/cutis.0272>
28. Takatsu K. Interleukin-5 and IL-5 receptor in health and diseases. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2011; 87(8):463–485. <https://doi.org/10.2183/pjab.87.463>

29. Yoshimura-Uchiyama C., Yamaguchi M., Nagase H., Matsushima K., Igarashi T., Iwata T., Yamamoto K., Hirai K. Changing expression of IL-3 and IL-5 receptors in cultured human eosinophils. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003; 309(1):26–31. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)01526-2](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)01526-2)
30. Molfino N.A., Gossage D., Kolbeck R., Parker J.M., Geba G.P. Molecular and clinical rationale for therapeutic targeting of interleukin-5 and its receptor. *Clin. Exp. Allergy* 2012; 42(5):712–737. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2011.03854.x>
31. Busse W., Chupp G., Nagase H., Albers F.C., Doyle S., Shen Q., Bratton D.J., Gunsoy N.B. Anti-IL-5 treatments in patients with severe asthma by blood eosinophil thresholds: Indirect treatment comparison. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019; 143(6):2336. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.08.031>
32. Hillas G., Fouka E., Papaioannou A.I. Antibodies targeting the interleukin-5 signaling pathway used as add-on therapy for patients with severe eosinophilic asthma: a review of the mechanism of action, efficacy, and safety of the subcutaneously administered agents, mepolizumab and benralizumab. *Expert Rev. Respir. Med.* 2020; 14(4):353–365. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1718495>
33. Haldar P., Brightling C.E., Hargadon B., Gupta S., Monteiro W., Sousa A., Marshall R.P., Bradding P., Green R.H., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364(6):588. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808991>
34. Yang W., Dong Z., Li Y., Zhang Y., Fu H., Xie Y. Therapeutic efficacy of chitosan nanoparticles loaded with BCG-polysaccharide nucleic acid and ovalbumin on airway inflammation in asthmatic mice. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2021; 40(8):1623–1631. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04183-9>
35. Zhou Y. [The clinical effect of BCG polysaccharide nucleic acid and live attenuated BCG on asthma and its effect on the level of serum cytokines and immune cells]. *Medical Innovation of China* 2020; 17(5):101–104 (in Chinese). <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-4985.2020.05.026>
36. Badovinac M., Nadrah K., Harlander M. Role of macrolide antibiotics in the treatment of chronic pulmonary diseases. *Zdrav. Vestn.* 2020; 89(7-8):446–457. <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.2955>
37. Altenburg J., de Graaff C.S., van der Werf T.S., Boersma W.G. Immunomodulatory effects of macrolide antibiotics – part 1: biological mechanisms. *Respiration* 2011; 81(1):67–74. <https://doi.org/10.1159/000320319>
38. Asgrimsson V., Gudjonsson T., Gudmundsson G.H., Baldursson O. Novel effects of azithromycin on tight junction proteins in human airway epithelia. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(5):1805–1812. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.5.1805-1812.2006>
39. Tojima I., Shimizu S., Ogawa T., Kouzaki H., Omura S., Sunazuka T., Shimizu T. Anti-inflammatory effects of a novel non-antibiotic macrolide, EM900, on mucus secretion of airway epithelium. *Auris. Nasus. Larynx* 2015; 42(4):332–336. <https://doi.org/10.1016/j.anl.2015.02.003>
40. Gibson P.G., Yang I.A., Upham J.W., Reynolds P.N., Hodge S., James A.L., Jenkins C., Peters M.J., Marks G.B., Baraket M., Powell H., Taylor S.L., Leong LEX, Rogers G.B., Simpson J.L. Effect of azithromycin on asthma exacerbations and quality of life in adults with persistent uncontrolled asthma (AMAZES): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2017; 390(10095):659–668. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31281-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31281-3)
41. Yang W., Dong Z., Li Y., Zhang Y., Fu H., Xie Y. Therapeutic efficacy of chitosan nanoparticles loaded with BCG-polysaccharide nucleic acid and ovalbumin on airway inflammation in asthmatic mice. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2021; 40(8):1623–1631. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04183-9>
42. Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (Update 2019). Available at: <http://www.ginasthma.org/>
43. Esteban-Gorgojo I., Antolín-Amérigo D., Domínguez-Ortega J., Quirce S. Non-eosinophilic asthma: current perspectives. *J. Asthma Allergy* 2018; 11:267–281. <https://doi.org/10.2147/JAA.S153097>
44. Nakao R., Yamamoto S., Yasumoto Y., Oishi K. Dosing schedule-dependent attenuation of dexamethasone-induced muscle atrophy in mice. *Chronobiol. Int.* 2014; 31(4):506–514. <https://doi.org/10.3109/07420528.2013.872654>
45. Recto, M.T., Gabriel, M.T., Kulthan, K., Tantilipikorn P., Aw D.C., Lee T.H., Chwen C.C., Mutusamy S., Hao N.T., Quang V.T., Canonica G.W. Selecting optimal second-generation antihistamines for allergic rhinitis and urticaria in Asia. *Clin. Mol. Allergy* 2017; 15:19. <https://doi.org/10.1186/s12948-017-0074-3>
46. Fang L. [Effects of cetirizine drops combined with budesonide inhaler on pulmonary function in children with acute asthma]. *Journal of Clinical Medicine in Practice* 2020; 24(3):87–89 (in Chinese). <https://doi.org/10.7619/jcmp.202003025>
47. Matsuda S., Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology* 2000; 47(2-3):119–125. [https://doi.org/10.1016/S0162-3109\(00\)00192-2](https://doi.org/10.1016/S0162-3109(00)00192-2)
48. Harrison C.A., Bastan R., Peirce M.J., Munday M.R., Peachell P.T. Role of calcineurin in the regulation of human lung mast cell and basophil function by cyclosporine and FK506. *Br. J. Pharmacol.* 2007; 150(4):509–518. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707002>
49. Stemmy E.J., Balsley M.A., Jurjus R.A., Damsker J.M., Bukrinsky M.I., Constant S.L. Blocking cyclophilins in

the chronic phase of asthma reduces the persistence of leukocytes and disease reactivation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 45(5):991–998. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2011-0007OC>

50. Bilocca D., Hargadon B., Pavord I.D., Green R.H., Brightling C.E., Bradding P., Wardlaw A.J., Martin N., Murphy A.C., Siddiqui S. The role of oral methotrexate as a steroid sparing agent in refractory eosinophilic asthma. *Chron. Respir. Dis.* 2018; 15(1):85–87. <https://doi.org/10.1177/1479972317709650>

51. Knarborg M., Hilberg O., Dahl R. [Methotrexate may be a useful corticosteroid reducing treatment of severe asthma]. *Ugeskr. Laeger* 2014; 176(15):10130598 (in Danish). PMID: 25350142.

52. Yarova P.L., Stewart A.L., Sathish V., Britt R.D. Jr, Thompson M.A., P Lowe A.P., Freeman M., Aravamudan B., Kita H., Brennan S.C., Schepelmann M., Davies T., Yung S., Cholisoh Z., Kidd E.J., Ford W.R., Broadley K.J., Rietdorf K., Chang W., Bin Khayat M.E., Ward D.T., Corrigan C.J., T Ward J.P., Kemp P.J., Pabelick C.M., Prakash Y.S., Riccardi D. Calcium-sensing receptor antagonists abrogate airway hyperresponsiveness and inflammation in allergic asthma. *Sci. Transl. Med.* 2015; 7(284):284ra60. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa0282>

53. Corrigan C.J. Calcilytics: a non-steroidal replacement for inhaled steroid and SABA/LABA therapy of human asthma? *Expert Rev. Respir. Med.* 2020; 14(8):807–816. <https://doi.org/10.1080/17476348.2020.1756779>

Информация об авторах:

Ли Ефэй, врач (магистр), отдел респираторной медицины, Первая больница при Харбинском медицинском университете, КНР; e-mail: ly13304560872@163.com

Чжан Вэй, профессор, заведующий отделением, отдел респираторной медицины, Первая больница при Харбинском медицинском университете, КНР

Чен Сюэ, врач (магистр), отдел респираторной медицины, Первая больница при Харбинском медицинском университете, КНР

Пан Чэнью, врач (магистр), отдел респираторной медицины, Первая больница при Харбинском медицинском университете, КНР

Author information:

Li Yefei, Physician (M.Sc.), Department of Respiratory Medicine, Harbin Medical University First Hospital, PRC; e-mail: ly13304560872@163.com

Zhang Wei, Professor, Head of Department, Department of Respiratory Medicine, Harbin Medical University First Hospital, PRC

Chen Xue, Physician (M.Sc.), Department of Respiratory Medicine, Harbin Medical University First Hospital, PRC

Pang Chenyou, Medical Doctor (M.Sc.), Department of Respiratory Medicine, Harbin Medical University First Hospital, PRC

Поступила 24.10.2022

Принята к печати 21.11.2022

Received October 24, 2022

Accepted November 21, 2022

Подписано к печати 21.12.2022. Дата выхода из печати 30.12.2022. Дата выхода в свет: 30.12.2022. Сверстано в ДНЦ ФПД, отпечатано в типографии ООО "Издательско-полиграфический комплекс ОДЕОН", г. Благовещенск, ул. Вокзальная, 75. Формат 60x84 1/8. Усл. печ. л. 17,2. Тираж 500 экз. Учредитель и издатель журнала Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания". Адрес издателя: 675000, г.Благовещенск, ул.Калинина, 22. Телефон (факс) 77-28-00. Главный редактор академик РАН В.П.Колосов. Ответственный за выпуск д.м.н. А.Н.Одиreeв. Свободная цена.