

УДК 616.248-001.19:(616.155.34+616.155.35)616.155-008.13]616-002.224

АКТИВНОСТЬ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ И ЭОЗИНОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЫ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ХОЛОДОВОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮА.Б.Пирогов¹, С.В.Зиновьев², Ю.М.Перельман¹, Ю.О.Семиреч¹, Г.В.Семенова¹, А.В.Колосов¹¹Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22²Амурская государственная медицинская академия, 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95**РЕЗЮМЕ**

В работе исследована цитохимическая активность фермента миелопероксидазы (МПО) в нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитах индуцированной мокроты (ИМ) у 49 больных бронхиальной астмой (БА) с холодовой бронхиальной гиперреактивностью (хБГР), рандомизированных в две группы. В течение 12 недель в 1 группе (23 пациента) был использован режим комплексной терапии астмы с применением базисных противовоспалительных препаратов – будесонид/формотерол (Симбикорт® Турбухалер®) в дозе 320/9 мкг + монтелукаст 10 мг в сутки, во 2-й группе (26 больных) – будесонид/формотерол в дозе 320/9 мкг. Зарегистрированы показатели низкой активности МПО в цитоплазме нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов, интенсивные процессы дегрануляции и цитолиза клеток, экзоцитоз ферментсодержащих гранул во внеклеточную среду ИМ больных обеих групп во вводном периоде. На момент окончания исследования внутриклеточная активность МПО эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитов ИМ пациентов обеих групп достоверно возросла, сопровождаясь снижением экзоцитоза МПО на фоне уменьшения дегрануляции и деструкции гранулоцитов. Со снижением интенсивности экзоцитоза МПО связано торможение деструктивного потенциала гранулоцитов и накопления фермента в тканевом (межклеточном) пространстве, влияющего на уровень воспаления. Уменьшение выброса из лейкоцитов МПО и повышение ее активности в цитоплазме лейкоцитов ИМ к окончанию периода лечения у пациентов обеих групп сопровождалось улучшением использованных для оценки режимов базисной противовоспалительной терапии показателей, при этом достоверно более высоких в 1 группе по сравнению со 2 группой. Одновременное повышение внутриклеточной активности исследуемого фермента у больных 1 группы, значительно превышающее значения активности МПО во 2 группе, свидетельствовало о более существенном снижении уровня воспаления бронхов у больных 1 группы. Полученные данные позволяют рассматривать активность МПО нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов ИМ не только как одного биомаркера хронического воспаления бронхов, но и в качестве дополнительного критерия оценки эффективности различных режимов базисной противовоспалительной терапии у больных БА с хБГР. С позиций при-

менения критериев цитохимической ферментативной оценки ИМ в клинической практике показано преимущество применения комплекса фармакологических средств (будесонид/формотерол + монтелукаст) перед режимом фиксированной комбинации будесонид/формотерол у больных БА с хБГР.

Ключевые слова: индуцированная мокрота, эозинофильные лейкоциты, нейтрофильные лейкоциты, макрофаги, миелопероксидаза, фармакотерапия бронхиальной астмы.

SUMMARY**MYELOPEROXIDASE ACTIVITY OF NEUTROPHILS AND EOSINOPHILS IN INDUCED SPUTUM OF PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA WITH COLD BRONCHIAL HYPERRESPONSIVENESS**A.B.Pirogov¹, S.V.Zinov'ev², J.M.Perelman¹, Yu.O.Semirech¹, G.V.Semenova¹, A.V.Kolosov¹¹Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration of Siberian Branch RAMS, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation²Amur State Medical Academy, 95 Gor'kogo Str., Blagoveshchensk, 67500, Russian Federation

In the present work we investigated the cytochemical activity of myeloperoxidase (MPO) of neutrophils and eosinophils in induced sputum (IS) in 49 patients with bronchial asthma (BA) with cold bronchial hyperresponsiveness (cBHR), randomized into two groups. During 12 weeks in the 1st group (23 patients) the mode of complex therapy of asthma with budesonide/formoterol (Symbikort®Turbuhaler®) at a dose of 320/9 mcg + montelukast 10 mg daily was used, in the 2nd group (26 patients) – budesonide/formoterol in the dose of 320/9mcg. The low MPO activity in the cytoplasm of neutrophils and eosinophils, intensive processes of degranulation and cells cytolysis, enzyme-containing granules exocytosis into the extracellular medium in patients of both groups in the introductory period were found. At the end of the study the intracellular MPO activity of eosinophilic and neutrophil leukocytes in IS of patients in both groups increased significantly, accompanied by a decrease in exocytosis of MPO against the reduction of degranulation and destruction of granulocytes. The reduction of MPO exocytosis was associated with the inhibition of destructive potential of granulocytes and accumulation of the enzyme in the

bronchial tissue (intracellular) space that influence the inflammation degree. Reduced ejection of MPO from the leukocytes and the increase of its activity in the cytoplasm of leukocytes in IS by the end of the treatment period in both groups of patients were accompanied by improvement of clinical features used to estimate the antiinflammatory therapy effectiveness, and they were significantly higher in 1st group compared with 2nd one. Simultaneous increase of intracellular activity of the enzyme studied in patients of the 1st group, which was significantly higher than in the 2nd group, suggested a significant decrease in the level of bronchial inflammation. The data obtained allow to consider the MPO activity of neutrophil and eosinophil leukocytes not only as one of the biomarkers of chronic inflammation of the bronchi, but also as an additional criterion for evaluating the effectiveness of various modes of antiinflammatory therapy in asthmatics with cBHR. From the point of application of the criteria of enzyme cytochemical assessment of IS in clinical practice we have demonstrated the advantage of the use of complex pharmacotherapy (budesonide/formoterol + montelukast) to the regime of a fixed combination of budesonide/formoterol only in patients with cBHR.

Key words: induced sputum, eosinophils, neutrophils, macrophages, myeloperoxidase, pharmacotherapy of bronchial asthma.

Наличие холодовой бронхиальной гиперреактивности (хБГР) у больных бронхиальной астмой (БА) ассоциировано с низким уровнем контроля болезни, обусловленным особенностями хронического воспалительного процесса в дыхательных путях и значительными трудностями в фармакотерапии преходящего холодового бронхоспазма [4, 11, 13]. Вариабельность клинических проявлений БА у больных с хБГР, как и прогнозируемый риск развития обострения болезни, тесно связаны с изменениями в системе биомаркеров воспаления бронхов [2, 3, 4]. В проведенных нами ранее исследованиях индуцированной мокроты (ИМ) у больных БА с хБГР был установлен смешанный тип бронхиального воспаления с преобладанием нейтрофилов [13]. Обнаруженное в нейтрофильно-эозинофильном типе воспаления слизистой оболочки бронхов преобладание количества нейтрофильных лейкоцитов над эозинофильными без выявленной четкой динамики количественных показателей ИМ на этапе достижения клинического контроля БА не отражает в полной мере взаимосвязи воспаления и клинико-функциональных параметров заболевания [1, 12, 15]. Как известно, критерием воспаления и его участия в патогенетических механизмах служит не только количество и соотношение клеточных популяций, но и их функционально-метаболическая, в частности, ферментативная, активность [1].

Роль биомаркера интенсивности воспаления и функциональной активности нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов современными авторами наиболее часто отводится ферменту миелопероксидазе (МПО) из класса оксидоредуктаз, локализованной в

цитоплазматических гранулах клеток и высвобождающейся в экстрацеллюлярное пространство посредством дегрануляции или в результате цитолиза [10]. МПО является одним из ключевых ферментов «дыхательного взрыва», катализируя продукцию высоко реакционно-способных агентов – окислителей и свободных радикалов [6, 14, 16] и доминируя в перекисном окислении липидов и внеклеточном нитрировании белков [6, 16]. Будучи катионным протеином в составе специфических гранул эозинофилов, МПО связывается с отрицательно заряженной плазматической мембраной клеток-мишеней [7], вызывая десквамацию и дисфункцию респираторного эпителия при астме [1, 12], что приводит к утрате извлекаемого из эпителиоцитов фактора релаксации [8] и стимуляции гиперреактивности дыхательных путей. Сведения о цитотоксических эффектах МПО и ее роли в эскалации воспаления и оксидативного стресса, характеризующегося высоким уровнем у больных БА с хБГР [2, 3, 11, 13], диктуют необходимость изучения активности МПО как показателя интенсивности воспаления бронхов и дополнительного маркера достижения контроля астмы. С этих позиций данные об активности МПО у больных БА с хБГР в современной отечественной и зарубежной литературе отсутствуют.

Цель исследования: определить активность МПО нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов ИМ у больных БА с хБГР на фоне различных вариантов базисной терапии: ингаляционными стероидами (ИГКС) в комбинации с длительно действующими β 2-агонистами (ДДБА) и дополненной препаратом монтелукаст – селективным антагонистом лейкотриеновых рецепторов.

Материалы и методы исследования

В холодный период года (декабрь-февраль) проведено открытое продольное исследование с участием 49 больных БА с хБГР (29 женщин и 20 мужчин). Средний возраст пациентов составил $32,7 \pm 1,6$ года. У всех больных был верифицирован диагноз персистирующей БА среднетяжелого неконтролируемого течения в соответствии с критериями GINA 2006, 2011 [9] и результатами Asthma Control Test (ACT) >10 и ≤ 19 баллов. На момент включения в исследование пациенты получали монотерапию препаратом бекламетазона дипропионатом (500-1000 мкг/сут) не менее 4 недель. Методом случайной выборки все больные, соответствующие критериям включения/исключения, были рандомизированы в две группы: 1 группу составили 23 пациента, 2 группу – 26 больных. В 1 группе больных был спланирован и использован режим комплексной терапии астмы с применением базисных противовоспалительных препаратов – будесонид/формотерол (Симбикорт® Турбухалер®) в дозе 160/4,5 мкг по 1 ингаляции утром и вечером + монтелукаст (селективный антагонист лейкотриеновых рецепторов) 10 мг в сутки (GINA, 2011). Во 2 группе – будесонид/формотерол в дозе 160/4,5 мкг дважды: утром и вечером. Оценку эффективности предложенных схем базисной терапии в 1 и 2 группах выполняли в течение всего периода на-

блюдения – 12 недель. Во вводном периоде (первый визит пациента) и по окончании 12 недель (второй визит) проводилось мониторинг проявлений БА, оцениваемых суммарно по 5-балльной шкале симптомов АСТ, дополненных оценкой параметров вентиляционной функции легких по данным спирометрии (ОФВ₁) и холодовой бронхопровокационной пробы (ΔОФВ₁) [2]. Клиническая эффективность достижения контроля БА оценивалась по числу пациентов с хорошим контролем болезни (20-25 баллов АСТ).

Цитохимическое исследование активности МПО нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов в цитологических мазках ИМ проводилось с помощью метода Грэхема-Кнолля [5] с докраской мазков после обработки бензидином и перекисью водорода водным раствором азур-2. Изображения микропрепаратов переводили в цифровую форму с помощью аналоговой видеокамеры ДСМ 510 и системы захвата изображе-

ния. Для цифровой обработки изображений клеток использовали компьютерные программы Image Tool и Optika Vision Pro (Италия), Mac Biophotonics Image S (США), с учетом полученных данных оптической плотности фермента рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) МПО. Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы Statistica for Windows 6.0. Количественные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего. Для сравнения частот альтернативного распределения использовали критерий Пирсона (χ^2).

Результаты исследования и их обсуждение

В исходном состоянии (первый визит) средние значения СЦК МПО в нейтрофильных лейкоцитах ИМ у пациентов обеих групп достоверно не отличались (табл. 1).

Таблица 1

Динамика изменений активности МПО в нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитах ИМ

Гранулоциты	СЦК МПО, в пикселях			
	1 группа		2 группа	
	Первый визит	Второй визит	Первый визит	Второй визит
Нейтрофильные лейкоциты	61,7±0,92	128,3±0,41*	60,7±0,73	118,5±2,39
	p<0,001		p<0,001	
Эозинофильные лейкоциты	102,4±5,41	148,1±2,49*	120,2±0,23	137,7±0,89
	p<0,001		p<0,001	

Примечание: * – различия показателей статистически значимы для 1 группы по сравнению со 2 группой на момент второго визита (p<0,001).

Таблица 2

Динамика изменений вентиляционной функции легких и АСТ

Показатели	1 группа		2 группа	
	Первый визит	Второй визит	Первый визит	Второй визит
ОФВ ₁ , % долж.	83,9±1,81	94,2±2,1*	82,1±1,4	87,3±1,6
	p<0,01		p<0,05	
ΔОФВ ₁ , %	22,6±3,2	11,5±2,6	15,4±2,3	12,1±1,4
	p<0,05		p>0,05	
АСТ, баллы	11,9±0,55	22,3±0,72*	12,3±0,55	19,6±0,86
	p<0,001		p<0,001	

Примечание: * – различия показателей статистически значимы для 1 группы по сравнению со 2 группой на момент второго визита (p<0,05)

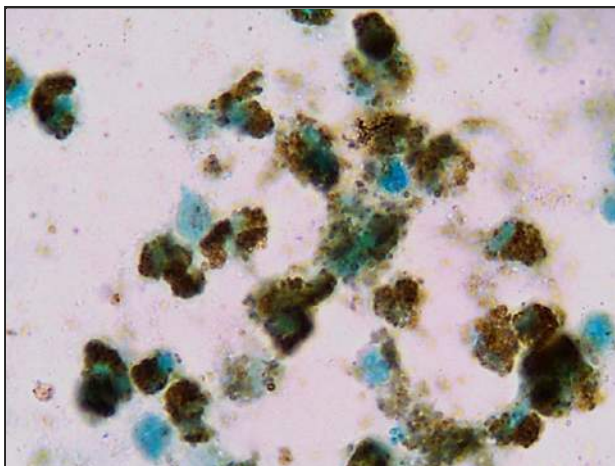


Рис. 1. Дегрануляция пероксидазо-положительных гранул эозинофильных лейкоцитов. Мазок ИМ пациента 1 группы, первый визит. Окраска бензидином. Увеличение: 1250.

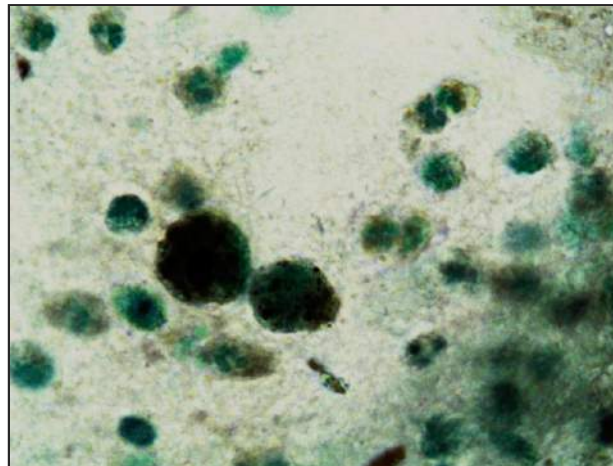


Рис. 2. Дегрануляция пероксидазо-положительных гранул нейтрофильных лейкоцитов. Нейтрофилы с признаками цитолиза. Высокая активность МПР в макрофагах. Мазок ИМ пациента 2 группы, первый визит. Окраска бензидином. Увеличение: 1250.

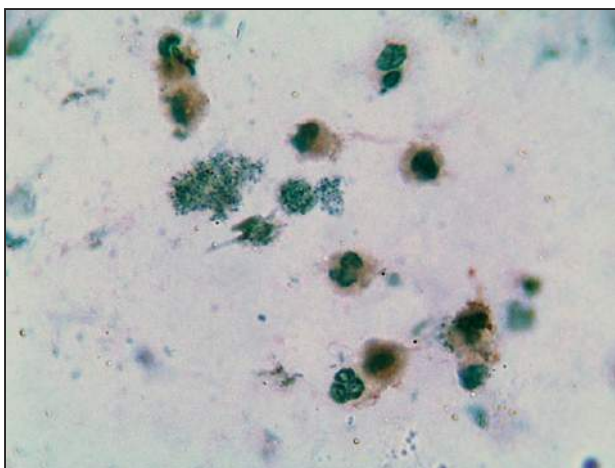


Рис. 3. Высокая активность МПР в сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитах. Мазок ИМ пациента 1 группы, второй визит. Окраска бензидином. Увеличение: 1250.

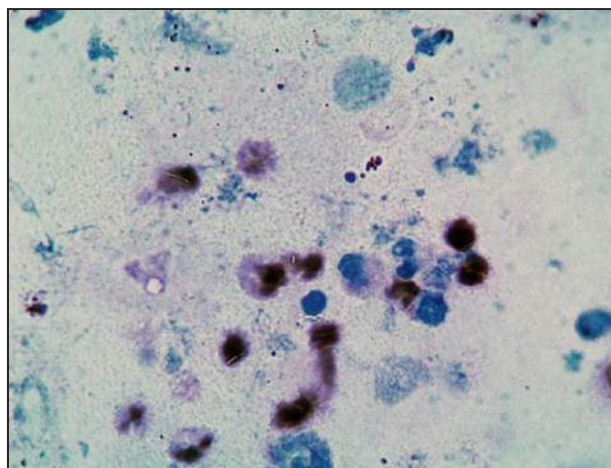


Рис. 4. Низкая активность миелопероксидазы в цитоплазме дегранулирующих сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов и высокая активность псевдопероксидазы в эритроцитах (реакция Лепене). Мазок ИМ пациента 1 группы, первый визит. Окраска бензидином. Увеличение: 1250.

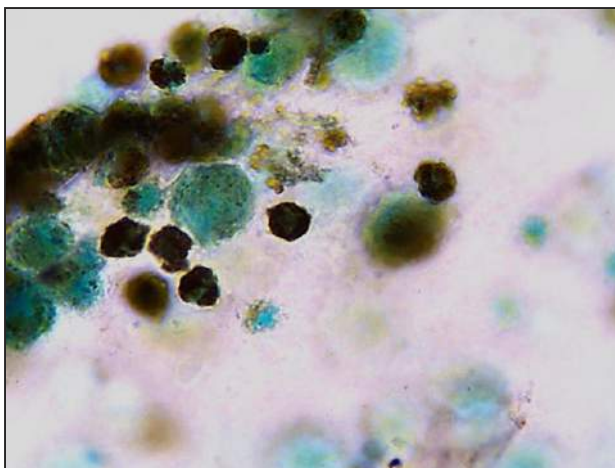


Рис. 5. Высокая активность МПР в эозинофильных лейкоцитах. Мазок ИМ пациента 2 группы, второй визит. Окраска бензидином. Увеличение: 1250.

При микроскопическом исследовании мазков ИМ до начала базисной терапии обнаружена выраженная дегрануляция эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитов с экзоцитозом пероксидазо-позитивных гранул во внеклеточное пространство. Кроме того, лейкоциты подвергаются деструкции. В полуразрушенной цитоплазме клеток регистрировались разреженные или единичные гранулы длиной, не превышающей 0,2-0,3 мкм (рис. 1, 2, 4). Слабая активность МПО мелких лейкоцитарных гранул, по-видимому, сопровождается накоплением энзима вне клеток, отражая высокий уровень лейкоцитарного экзоцитоза и деструктивных процессов, протекающих не только в лейкоцитах, но и, как можно предположить, во всех тканевых структурах бронхов у исследуемых больных БА. Данное предположение подтверждается сведениями о деструкции лейкоцитов, в частности, эозинофильных, происходящей путем вакуолизации и фрагментации клеток, как одного из фундаментальных показателей неконтролируемого течения БА [17].

На момент окончания исследования оптическая плотность МПО и, следовательно, СЦК фермента в эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитах ИМ больных обеих групп достоверно возростала. После реакции с бензидином в присутствии перекиси водорода цитоплазма эозинофильных лейкоцитов приобретала однородную черную окраску из-за компактного расположения гранул длиной 0,3-0,4 мкм и более, при этом бензидин, окисленный МПО, препятствовал обнаружению клеточного ядра (рис. 5). В нейтрофильных лейкоцитах активность МПО выявлялась в виде интенсивно окрашенного диффузно-гранулярного материала, заполняющего цитоплазму и не маскирующего сегменты ядра (рис. 3). Данные морфологические признаки свидетельствуют о замедлении мобилизации азурофильных гранул лейкоцитов, процессов экзоцитоза МПО во внеклеточную среду и интенсивности деструкции клеток. В свою очередь, со снижением интенсивности экзоцитоза МПО связано уменьшение деструктивного потенциала гранулоцитов и, в определенной мере, возможное торможение или прерывание окислительного и свободнорадикального повреждения тканей [1], что, по всей вероятности, влияет на замедление эскалации воспаления бронхов у больных БА [1]. При анализе показателей СЦК, отражающих общую динамику уменьшения интенсивности экзоцитоза и нарастания содержания МПО внутри гранулоцитов, установлено, что внутриклеточная активность исследуемого фермента у больных БА 1 группы была значительно выше, чем во 2 группе (табл. 1). Активность МПО возросла как в эозинофильных, так и в нейтрофильных лейкоцитах, в большей степени – в нейтрофилах ИМ больных 1 группы. К окончанию периода лечения у пациентов обеих групп зарегистрирована положительная динамика изменения значений $ОФВ_1$ и АСТ на фоне снижения параметров хБГР (табл. 2). Одновременно установлено, что улучшение показателей, используемых для оценки клинической эффективности предложенных режимов базисной противовоспалительной терапии у больных БА с хБГР,

было достоверно выше в 1 группе по сравнению со 2 группой.

Сопоставляя полученные результаты с данными цитохимического исследования ИМ, можно констатировать, что достигнутому контролю астмы (20-25 баллов по результатам АСТ) в 65% случаев в 1 группе соответствовали наиболее высокие концентрации внутриклеточной МПО на фоне достоверно выраженного снижения значений холодового бронхоспазма. Последние находились в тесной взаимосвязи, что подтверждается линейной корреляцией признаков ($r=-0,75$). У больных 2 группы (контроль БА в 31% случаев; $\chi^2=4,5$, $p<0,05$) повышение содержания МПО в цитоплазме нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов, инициация клеточной дегрануляции и, предположительно, прогрессирование воспаления были менее выражены.

Выводы

1. МПО может служить одним из биомаркеров хронического воспаления бронхов у больных БА с хБГР. Внутриклеточная концентрация МПО в эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитах ИМ соответствует интенсивности воспаления в тканевом (межклеточном) пространстве бронхов и повышается в цитоплазме гранулоцитов по мере достижения контроля заболевания, при низких показателях энзимной активности в подвергающихся выбросу содержащих МПО гранул исследуемых клетках в исходном состоянии.

2. Низкая внутриклеточная активность МПО обусловлена интенсификацией дегрануляции лейкоцитов с экзоцитозом ферментсодержащих гранул во внеклеточную среду и процессами цитолиза. Восстановление ферментативного потенциала эозинофилов и нейтрофилов на фоне снижения индукции дегрануляции и клеточной деструкции свидетельствует об уменьшении роли внеклеточной МПО в воспалительном ответе бронхов у больных БА с хБГР.

3. Цитоморфологические признаки активности МПО, дегрануляции и деструкции эозинофильных и нейтрофильных лейкоцитов выступают в качестве дополнительного критерия оценки эффективности различных вариантов базисной противовоспалительной терапии у больных БА с хБГР.

4. Показано преимущество применения комплекса фармакотерапевтических средств (будесонид/формотерол + монтелукаст) перед режимом фиксированной комбинации будесонид/формотерол у больных БА с измененной холодовой реактивностью бронхов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронина Л.Б. Метаболические и структурно-функциональные свойства лейкоцитов при бронхиальной астме у детей, сравнительная эффективность различных вариантов базисной терапии в коррекции выявленных отклонений: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иваново, 2007. 21 с.

2. Возможность достижения и поддержания контроля над бронхиальной астмой у больных с холодовой гиперреактивностью бронхов / В.П.Колосов [и др.] // Тер. арх. 2014. Т.86, №3. С.40–44.

3. Эффективность режимов противовоспалительной терапии у больных бронхиальной астмой с холодовой бронхиальной гиперреактивностью в сочетании с субклиническим гипотиреозом / Т.А.Мальцева [и др.] // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2014. Вып.52. С.16–22.

4. Мальцева Т.А., Пирогов А.Б. Маркёры воспаления дыхательных путей у больных бронхиальной астмой с холодовой бронхиальной гиперреактивностью // Вопросы сохранения и развития здоровья населения Севера и Сибири: мат. науч.-практ. конф. Красноярск, 2013. С.50–51.

5. Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия: пер. с англ. / под ред. Н.С.Кисляк. М.: Медицина, 1983. 318 с.

6. Regulation of inducible nitric oxide synthase by self-generated NO / H.M.Abu-Soud [et al.] // *Biochemistry*. 2001. Vol.40, №23. P.6876–6881.

7. Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration / S.Baldus [et al.] // *J. Clin. Invest.* 2001. Vol.108, №12. P.1759–1770.

8. Human eosinophil major basic protein causes hyperreactivity of respiratory smooth muscle. Role of the epithelium / N.A.Flavahan [et al.] // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988. Vol.138, №3. P.685–688.

9. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2011). URL: <http://www.ginasthma.com>.

10. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe // *J. Leukoc. Biol.* 2005. Vol.77, №5. P.598–625.

11. Achievement of asthma control in patients with cold airway hyperresponsiveness at different variants of basic therapy / V.P.Kolosov [et. al.] // *Eur. Respir. J.* 2013. Vol.42, Suppl.57. P.400.

12. Control of mild to moderate asthma over 1-year with the combination of salmeterol and fluticasone propionate / B.Lundbäck [et al.] // *Respir. Med.* 2006. Vol.100, №1. P.2–10.

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

14. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis / E.A.Podrez [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. Vol.28, №12. P.1717–1725.

15. Neutrophils from allergic asthmatic patients produce and release metalloproteinase-9 upon direct exposure to allergens / I.Ventura [et al.] // *Allergy*. 2014. Vol.69, №7. P.898–905.

16. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation / R.Zhang [et al.] // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol.277, №48. P.46116–46122.

17. Ultrastructural characteristics of eosinophilic leukocytes contained in the respiratory tract in patients with bronchial asthma / S.V. Zinoviev [et al.] // *Амурский мед. журн.* 2013. №2(02). С.171–173.

sional'nye svoystva leykotsitov pri bronkhial'noy astme u detey, sravnitel'naya effektivnost' razlichnykh variantov bazisnoy terapii v korrektsii vyyavlennykh otkloneniy: avtoreferat dissertatsii kandidata meditsinskikh nauk [Metabolic and structure-functional properties of leucocytes at bronchial asthma in children, comparative effectiveness of different variants of the basic therapy in the correction of identified deviations: abstract of thesis...candidate of medical sciences]. Ivanovo; 2007.

2. Kolosov V.P., Pirogov A.B., Perelman J.M., Maltseva T.A., Prikhodko A.G. *Terapevticheskiy arkhiv* 2014; 86(3): 40–44.

3. Mal'tseva T.A., Kolosov V.P., Pirogov A.B., Perelman J.M., Ushakova E.V., A.V.Kolosov *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2014; 52:16–22.

4. Mal'tseva T.A., Pirogov A.B. *Voprosy sokhraneniya i razvitiya zdorov'ya naseleniya Severa i Sibiri: materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii* (Scientific-practical conference «The questions of the maintenance and development of the health of the population of the North and Siberia»). Krasnoyarsk; 2013:50–51.

5. Hayhoe F.G.H., Quaglino D. *Gematologicheskaya tsitokhimiya* [Hematological cytochemistry]. Moscow: Meditsina; 1983.

6. Abu-Soud H.M., Ichimori K., Nakazawa H., Stuehr D.J. Regulation of inducible nitric oxide synthase by self-generated NO. *Biochemistry* 2001; 40(23):6876–6881.

7. Baldus S., Eiserich J.P., Mani A., Castro L., Figueroa M., Chumley P., Ma W., Tousson A., White C.R., Bullard D.C., Brennan M.L., Lusi A.J., Moore K.P., Freeman B.A. Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration. *J. Clin. Invest.* 2001; 108(12):1759–1770.

8. Flavahan N.A., Slifman N.R., Gleich G.J., Vanhoutte P.M. Human eosinophil major basic protein causes hyperreactivity of respiratory smooth muscle. Role of the epithelium. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988; 138(3): 685–688.

9. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2014). Available at: www.ginasthma.com.

10. Klebanoff S.J. Myeloperoxidase: friend and foe. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 77(5):598–625.

11. Kolosov V.P., Pirogov A.B., Perelman J.M., Naryshkina S.V., Maltseva T.A. Achievement of asthma control in patients with cold airway hyperresponsiveness at different variants of basic therapy. *Eur. Respir. J.* 2013; 42(Suppl.57); 400s.

12. Lundbäck B., Rönmark E., Lindberg A., Jonsson A.C., Larsson L.G., Pétavy F., James M. Control of mild to moderate asthma over 1-year with the combination of salmeterol and fluticasone propionate. *Respir. Med.* 2006; 100(1):2–10.

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

14. Podrez E.A., Abu-Soud H.M., Hasen S.L. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28(12):1717–1725.

REFERENCES

1. Voronina L.B. *Metabolicheskie i strukturno-funkt-*

15. Ventura I., Vega A., Chacón P., Chamorro C., Aroca R., Gómez E., Bellido V., Puente Y., Blanca M., Monteseirín J. Neutrophils from allergic asthmatic patients produce and release metalloproteinase-9 upon direct exposure to allergens. *Allergy* 2014; 69(7):898–905.

16. Zhang R., Brennan M.L., Shen Z., MacPherson J.C., Schmitt D., Molenda C.E., Hazen S.L. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation

of lipid peroxidation at sites of inflammation. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(48): 46116–46122.

17. Zinoviev S.V., Tseluyko S.S., Tkacheva S.I., Kozlova V.S. Ultrastructural characteristics of eosinophilic leukocytes contained in the respiratory tract in patients with bronchial asthma. *Amurskiy meditsinskiy zhurnal* 2013; 2(02):171–173.

Поступила 07.07.2014

Контактная информация

Алексей Борисович Пирогов,

*кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории профилактики НЗЛ,
Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН,*

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

E-mail: dncfpd@ramn.ru

Correspondence should be addressed to

Aleksey B. Pirogov,

*MD, PhD, Associate professor, Senior staff scientist of Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases,
Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration SB RAMS,*

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

E-mail: dncfpd@ramn.ru