

СЕКРЕЦИЯ МУЦИНОВ СЛИЗИСТОЙ НОСА В ОТВЕТ НА ГИПЕРВЕНТИЛЯЦИЮ ХОЛОДНЫМ ВОЗДУХОМ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ И КОНТРОЛИРУЕМОСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ**Э.В.Некрасов, Ю.М.Перельман, А.Г.Приходько, Э.В.Захарова, Г.А.Макарова***Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22***РЕЗЮМЕ**

Гиперсекреция муцинов слизистой оболочкой является одной из причин обструкции дыхательных путей у больных бронхиальной астмой (БА). Модель объединенной дыхательной системы рассматривает верхние и нижние дыхательные пути как единую морфофункциональную систему, имеющих сходную реакцию их слизистых на триггер астматического приступа. Целью нашего исследования стала оценка секреции муцинов слизистой носа у больных БА в ответ на вдыхание холодного воздуха. Секрецию муцинов оценивали по содержанию общих углеводов и двух основных индивидуальных муцинов (MUC5AC и MUC5B) в лаважной жидкости, отобранной из носовой полости у 16 пациентов с разной степенью контролируемости и тяжести заболевания без выраженных обструктивных нарушений. У большинства пациентов наблюдали увеличение уровня общих углеводов в лаважной жидкости в первую минуту после холодовой пробы с последующим снижением почти до исходного уровня в течение 30 мин. Больные средней степени тяжести и с неконтролируемой БА имели более высокие уровни секреции муцинов, измеренных как общие углеводы, чем соответствующие группы больных легкой степенью тяжести и частично контролируемой БА. В отличие от общих углеводов у большинства больных происходило снижение содержания муцинов MUC5AC и MUC5B после дыхания холодным воздухом. Между содержанием этих двух муцинов была тесная корреляция до и после холодовой провокации, что свидетельствует в пользу общего места их биосинтеза в слизистой носа у больных БА. Обнаруженные корреляции между содержанием муцинов и параметрами вентиляционной функции легких подтверждают возможность использования слизистой носа в качестве модели для изучения секреции муцинов в развитии холодовой гиперреактивности дыхательных путей.

Ключевые слова: бронхиальная астма, слизистая носа, гипервентиляция холодным воздухом, муцины, MUC5AC, MUC5B.

SUMMARY**MUCIN SECRETION IN THE NASAL MUCOSA IN RESPONSE TO COLD AIR HYPERVENTILATION IN ASTHMATICS WITH DIFFERENT DEGREES OF ASTHMA CONTROL AND DISEASE SEVERITY****E.V.Nekrasov, J.M.Perelman, A.G.Prikhodko,****E.V.Zakharova, G.A.Makarova***Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration of Siberian Branch RAMS, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

Mucus hypersecretion is one of the causes of airway obstruction in patients with asthma. The unified airway model considers upper and lower airways as a single morphofunctional entity and predicts potentially similar responses of their mucosae to an asthma trigger. The objective of this study was an assessment of mucin secretion by nasal mucosa in asthmatics with varying degrees of disease severity in response to cold air breathing. Mucin secretion was estimated as changes in the content of total carbohydrates and mucins MUC5AC and MUC5B in the nasal lavage fluid before and after the cold air challenge in 16 patients with different degrees of asthma control and the disease severity, without accelerated decline in lung function. The majority of the subjects exhibited an increase in the carbohydrate level in the first minutes after the cold air challenge with a subsequent decrease to about the initial level during 30 min. The patients with moderate and uncontrolled asthma had higher content of mucin secretion measured as total carbohydrates as compared with the groups of mild and controlled disease. In opposite to the total carbohydrate changes, there was a reduction of MUC5AC and MUC5B in the lavage fluids, on average, after the exposure to cold air. High correlations between content of the two mucins in the samples before and after cold challenge suggest a possibility of a common site of their biosynthesis in nasal mucosa of asthmatics. The found correlations between the content of mucins in nasal lavage fluids and lower airway response to cold air makes nasal mucosa a promising model for studying mucin secretion in the development of bronchial hyperresponsiveness to cold air.

Key words: bronchial asthma, nasal mucosa, hyperventilation with cold air, mucins, MUC5AC, MUC5B.

Обструкция дыхательных путей является главным патологическим следствием бронхиальной астмы (БА) и может быть фатальной при обострении этого заболевания [9]. Анатомические исследования пациентов, умерших от астматического приступа, обнаружили присутствие сгустков в просветах бронхов, состоящих из клеток и слизи. Как показали некоторые исследования, основными макромолекулами сгустков слизи являются муцины [8].

В дыхательных путях взрослого человека обнаружена экспрессия девяти муцинов (MUC1, 2, 4, 5AC, 5B,

7, 8, 11 и 13). MUC5AC и MUC5B являются главными крупными гель-формирующими муцинами выделений дыхательной системы. С помощью антител к этим муцинам было показано, что бокаловидные клетки преимущественно секретируют MUC5AC, тогда как MUC5B – доминирующий муцин желез подслизистого слоя [7]. Астма сопровождается гиперплазией бокаловидных клеток и повышенной секрецией муцина MUC5AC. Напротив, секреция муцина MUC5B изменяется в меньшей степени у больных астмой [8].

Известно, что у части больных БА длительное воздействие низкотемпературного воздуха может сопровождаться бронхоспастической реакцией и усилением хронического воспаления дыхательных путей, точный механизм которого до конца не ясен и продолжает обсуждаться [2, 9]. Молекулярные каскады, регулирующие спровоцированные холодом реакции в легочной ткани, связаны с усилением воспаления, нарушением продукции муцинов, повреждением эпителиального слоя дыхательных путей вследствие оксидативной реакции клеток и высвобождения эпителиальными клетками различных биологически активных веществ [6, 16, 17]. Ранее нами была показана роль оксидативного стресса в качестве одной из важных составляющих механизма формирования холодовой гиперреактивности дыхательных путей у больных БА [1, 3, 20]. Как оказалось, холодовое воздействие на дыхательную систему вызывает увеличение концентрации H_2O_2 и диеновых конъюгатов в конденсате выдыхаемого воздуха, коррелирующее с выраженностью холодовой бронхоспазма. T.S.Hallstrand et al. [12] наблюдали увеличение секреции муцина MUC5AC после физических упражнений у больных БА, испытывавших бронхоконстрикцию, вызванную физической нагрузкой. В экспериментах *in vitro* с культурой нормальных эпителиальных клеток бронхов человека было показано усиление секреции муцина MUC5AC в ответ на действие холода за счет активации рецептора TRPM8 [16].

Модель объединенной дыхательной системы рассматривает верхние и нижние дыхательные пути как единую морфофункциональную систему, имеющих сходную реакцию их слизистых на триггер астматического приступа [15].

Цель настоящего исследования заключалась в выявлении динамики секреции муцинов в верхних дыхательных путях больных БА в ответ на вдыхание холодного воздуха.

Материалы и методы исследования

Проведено обследование 16 больных БА (12 женщин и 4 мужчин), находившихся на лечении в клинике ФБГУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН. Средний возраст обследованных составил $43,9 \pm 2,7$ года, рост – $167,9 \pm 3,3$ см, вес – $78,4 \pm 3,6$ кг. Только двое из пациентов были курильщиками. Диагноз БА был выставлен в соответствии с Международными согласительными документами GINA [10]. Больные не имели выраженных обструктивных нарушений ($ОФВ_1$ в среднем $94,1 \pm 4,3\%$ от должной величины). Все больные имели сопутствующую патологию верхних дыхательных

путей: 10 пациентов страдали аллергической формой ринита, 3 – хроническим синуситом, у 2 больных были обнаружены полипы в пазухах носа. Пациенты знакомы и подписывали протокол информированного согласия. На момент включения в исследование больные, за исключением 5 пациентов, получали при медикаментозной терапии низкие и средние суточные дозы ингаляционных кортикостероидов в комбинации с β_2 -агонистами длительного действия, либо с β_2 -агонистами короткого действия. Кроме того, 9 человек дополнительно принимали блокатор М-холинорецепторов.

Протокол исследования одобрен Комитетом по биоэтике ФБГУ «ДНЦ ФПД» СО РАМН. Пробу изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (ИГХВ) проводили в течение 3 мин охлажденной до -20°C воздушной смесью, содержащей 5% CO_2 . Уровень вентиляции соответствовал 60% должной максимальной вентиляции лёгких. Реакцию дыхательных путей на охлаждение после проведения пробы оценивали по изменению форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) и параметров кривой поток-объем форсированного выдоха, отражающих проходимость дыхательных путей: объема форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_1$) и падения этого показателя после холодовой пробы ($\Delta ОФВ_1$), максимальной объемной скорости выдоха на уровне 50% ФЖЕЛ ($МОС_{50}$) [3, 19].

С целью изучения секреции муцинов слизистой носа в ответ на воздействие холодного воздуха пациенту предлагалось вдыхать в течение 5 мин холодный воздух также в режиме гипервентиляции через детскую анестезиологическую маску, которая плотно фиксировалась, чтобы исключить попадание комнатного воздуха.

Выдох пациентом осуществлялся через рот в окружающую среду. У всех больных выполняли забор лаважной жидкости из носовой полости до (контроль) и после проведения холодовой провокации на 1, 15 и 30 минутах восстановительного периода.

Перед первичным забором лаважной жидкости носовой проход промывали не менее трех раз 0,9% раствором хлорида натрия, подогретым до физиологической температуры ($36 \pm 3^\circ\text{C}$), выдерживая жидкость в носовой полости в течение 30 сек. с интервалом в 5 мин. Затем осуществляли непосредственно сам забор материала. Используя шприц со специальной силиконовой насадкой, носовую полость заполняли 3 или 5 мл 0,9% раствора хлорида натрия, выдерживали его в течение 1 мин, после чего отбирали обратно в шприц и переносили в мерную стеклянную пробирку для измерения объема извлеченной жидкости. Собранные образцы центрифугировали при 2900 об/мин в течение 15 мин, отбирали аликвоты для анализа общих углеводов и для последующего хранения образцов.

Общие углеводы (ОУ) анализировали фенол-серным методом по адаптированной процедуре T.Masuko et al. [18], используя лактозу в качестве стандарта. Анализ проводили в трех аналитических повторностях для каждого образца. Содержание муцинов MUC5AC и

MUC5B определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов (Cusabio Biotech Co., Ltd., КНР) в двух повторностях для каждого образца.

Поскольку больным вводили в носовую полость разный объем жидкости (3 или 5 мл), то рассчитывали общее содержание муцинов в лаважной жидкости, равное концентрации муцинов, умноженной на объем извлеченной жидкости.

Статистический анализ полученного материала проводили на основе стандартных методов вариационной статистики с оценкой достоверности различий по критерию Стьюдента (t). Для определения достоверности различий использовали непарный критерий t, в случаях негауссовых распределений – непараметрические критерии Колмогорова-Смирнова и Манна-Уитни. При оценке внутригрупповых различий применяли парный критерий t, критерий Вилкоксона. Принимали во внимание уровни значимости (p) 0,05; 0,01; 0,001.

Результаты исследования

После обработки полученного материала динамику показателей изучали в целом по группе, затем при разделении больных на группы по тяжести заболевания и контролируемости течения БА (табл. 1).

Группа больных БА легкой степени тяжести имела в большинстве случаев частично контролируемое течение заболевания, за исключением 2 человек. Также 2 пациента из группы больных БА средней степени тяжести имели частично контролируемое течение, остальные – неконтролируемое.

В среднем по группе падение ОФВ₁ после пробы ИГХВ (Δ ОФВ₁) составило $-13,5 \pm 4,5\%$.

Большинство пациентов хорошо переносили холодную провокацию при дыхании носом, однако у 2 человек отмечены приступы кашля и затрудненное дыхание. Этим больным после пробы между 1 и 15 мин восстановительного периода ингалировался комбинированный бронхолитический препарат Беродуал. По завершению процедуры отбора назального лаважу 7 участников жаловались на чувство заложенности носа, зуда или сухости в носовой полости.

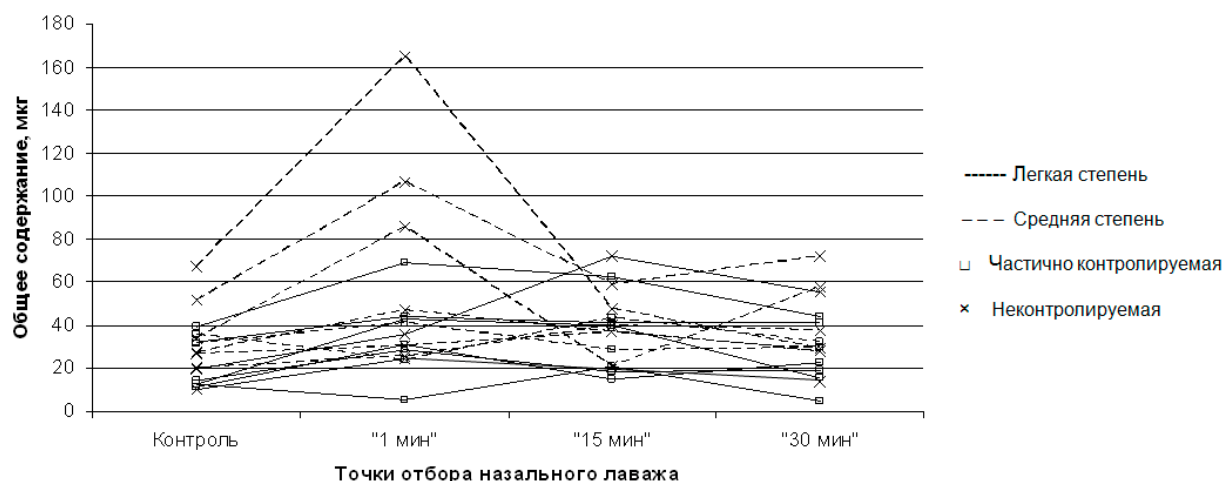
Секрецию муцинов оценивали по содержанию ОУ и двух основных муцинов (MUC5AC и MUC5B), описанных для дыхательной системы человека. Содержание ОУ в назальном лаважу варьировало в широких пределах среди участников, как по исходному уровню, так и в течение 30 мин после холодной провокации (рис. 1а). В большинстве случаев происходило усиление секреции муцинов сразу после ИГХВ с последующим снижением почти до исходного уровня к 30 мин. У трех участников обнаружено снижение содержания ОУ в первую минуту после провокации, которое затем увеличивалось к 15 мин и опять снижалось к 30 мин. При анализе среднегрупповых значений также наблюдали увеличение содержания ОУ на первой минуте после провокации с последующим их снижением, без полного восстановления до исходного уровня (рис. 1б). При анализе больных по тяжести заболевания исходно достоверно более высокие значения ОУ имели пациенты со среднетяжелым течением болезни по отношению к легкой степени тяжести ($p < 0,05$). В то же время в этих группах больных отмечали почти двукратное увеличение ОУ сразу после провокации – на 1 мин восстановительного периода ($p < 0,05$ и $p < 0,01$, соответственно). В дальнейшем, на 15 и 30 мин у больных со среднетяжелым течением болезни уровень ОУ снижался практически до исходного, тогда как у больных с легким течением БА он оставался без существенных изменений на протяжении последующих 30 мин. Больные с неконтролируемым течением астмы также показали более высокий исходный уровень ОУ в лаважной жидкости по отношению к пациентам с частичным контролем (рис. 1б). Если у пациентов с неконтролируемым течением БА также наблюдали достоверный двукратный прирост ОУ на 1 мин после ингаляции холодным воздухом с последующим его снижением к 30 мин восстановительного периода, то в группе больных с частично-контролируемым течением болезни увеличение уровня ОУ после провокации происходило в меньшей степени, и с 1 по 30 мин содержание ОУ достоверно не отличалось от исходного значения.

Таблица 1

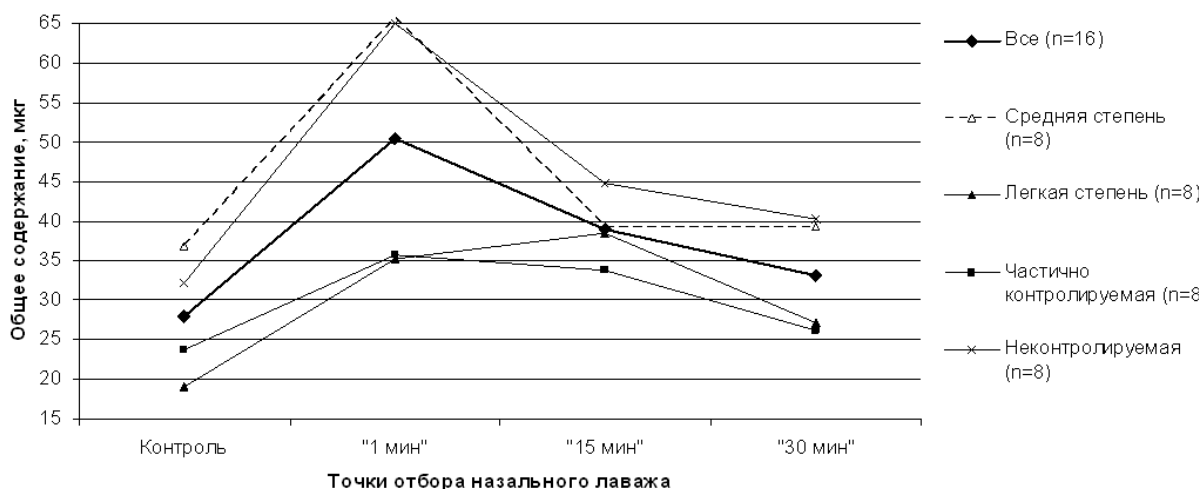
Распределение больных в группах, основные параметры вентиляционной функции легких и реакция бронхов на пробу ИГХВ ($M \pm m$)

| Показатели | Больные БА | | | | |
|-------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------------|------------------------|
| | Общая группа (n=16) | Легкая степень (n=8) | Средняя степень (n=8) | Частично-контролируемая (n=8) | Неконтролируемая (n=8) |
| ОФВ ₁ , % долж. | 94,1±4,3 | 104,3±3,0 | 84,0±6,34* | 104,1±3,15 | 84,2±6,35* |
| ИТ, % долж. | 88,6±2,8 | 94,2±2,4 | 83,0±4,25* | 94,4±2,22 | 82,8±4,15 |
| Δ ОФВ ₁ , % | -13,5±4,5 | -8,3±1,56 | -19,6±9,45 | -14,3±6,2 | -12,4±7,22 |

Примечание: * – достоверность различий показателей ($p < 0,05$) между больными с различной степенью тяжести заболевания (легкая и средняя) или частично-контролируемым и неконтролируемым течением.



1а



1б

Рис. 1. Изменения в содержании ОУ в лаважной жидкости до (контроль) и после холодовой провокации у индивидуальных пациентов (а) и по группам больных (б).

Содержание отдельных муцинов (MUC5AC и MUC5B) оценивали в назальном лаваже, собранном до и после ИГХВ. В тех случаях, когда концентрация ОУ после холодовой провокации не превышала исходные значения (контроль), но повышалась через 15 мин, образцы также были проанализированы на содержание этих муцинов (4 пациента, рис. 2). Изменения в содержании муцинов MUC5AC и MUC5B после холодовой пробы, в целом, не воспроизводили изменения ОУ за несколькими исключениями. При индивидуальном анализе полученных результатов из 16 пациентов у 4 наблюдалось увеличение уровня MUC5AC после провокации, у 4 – содержание MUC5AC почти не изменилось, у 8 оно снижалось после воздействия холодным воздухом. Из 4 пациентов, имевших увеличение уровня MUC5AC, у 3 отмечено несколько повышенное содержание MUC5B. Средние значения в общей группе больных показали достоверное уменьшение содержания MUC5AC в лаважной жидкости после вдыхания холодного воздуха (рис. 3а), падение составило в среднем $15,5 \pm 7,2\%$ ($p < 0,05$). При анализе MUC5B (рис. 3б) найдено более выраженное его снижение после холодовой провокации, разность значений до и после пробы составила $25,6 \pm 7,7\%$ ($p < 0,01$). Содержание MUC5B тесно коррелировало с содержанием MUC5AC

как до ИГХВ, так и после пробы (табл. 2).

Кроме того, в общей группе больных БА была найдена корреляция между исходной концентрацией MUC5B в лаважной жидкости и выраженностью реакции бронхов (ΔO_{FV_1}) на пробу ИГХВ (табл. 2).

При разделении больных на группы было обнаружено достоверное снижение MUC5B после воздействия холодного воздуха только у лиц со средней степенью тяжести заболевания и у пациентов с неконтролируемым течением болезни. Обращает на себя внимание найденная у этих больных прямая коррелятивная связь между содержанием муцинов MUC5AC и MUC5B с уровнем ОУ до и после пробы ИГХВ (табл. 2).

Такая взаимосвязь не была обнаружена у лиц с легким течением заболевания, а у больных с частично-контролируемым течением БА она носила обратный характер: между ОУ и MUC5AC, и ОУ и MUC5B. В то же время обнаружена тесная связь между проходимостью мелких бронхов ($MO_{C_{50}}$) и продукцией обоих муцинов (MUC5AC и MUC5B) после пробы ИГХВ у лиц с легким течением заболевания, а также прямая корреляция между исходным уровнем ОУ в назальном лаваже и реакцией бронхов (ΔO_{FV_1}) на холодовую бронхопровокацию. Схожие тенденции были обнару-

жены у лиц с частично-контролируемым течением заболевания. Исходная проходимость мелких дыхательных путей (MOC_{50}) была связана с содержанием муцина MUC5B после пробы, а максимальная реакция

дыхательных путей на пробу ИГХВ тесно коррелировала с продукцией MUC5B в ответ на холодовое воздействие.

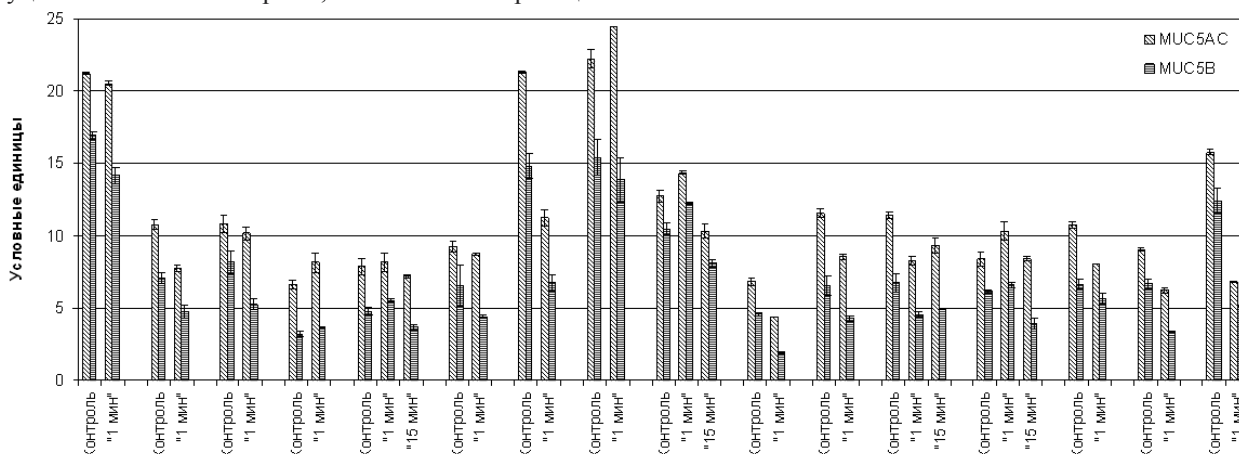
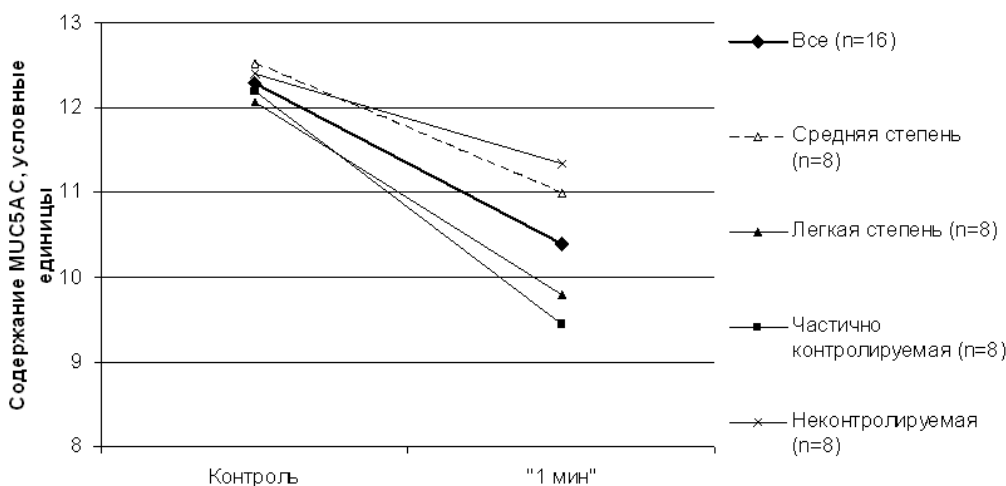
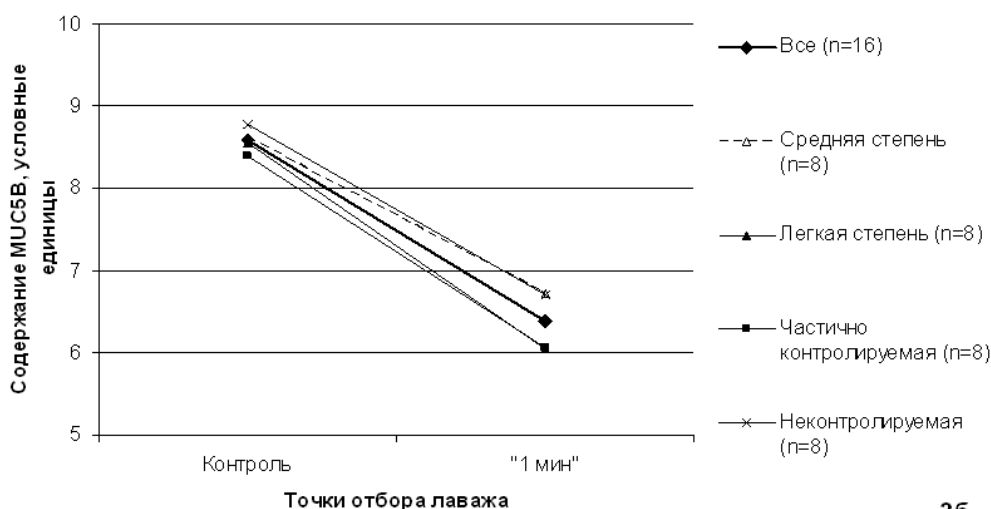


Рис. 2. Содержание муцинов MUC5AC и MUC5B до (контроль) и после холодовой провокации у отдельных пациентов. Здесь и на рис. 3 содержание муцинов выражено в условных единицах (оптическое поглощение реакционной среды при ИФА в перерасчете на извлеченный объем лаважной жидкости). Показаны средние значения \pm исходные значения двух повторностей.



3а



3б

Рис. 3. Содержание муцинов MUC5AC (а) и MUC5B (б) до (контроль) и сразу после холодовой провокации по группам больных.

Таблица 2

Коэффициенты корреляции (r) между содержанием ОУ, индивидуальных муцинов и параметрами вентиляционной функции легких

| Корреляционные пары показателей | Больные БА | | | | | | | | | |
|---------------------------------|---------------------|------------|----------------|------------|-----------------|------------|-------------------------|------------|------------------|------------|
| | Общая группа | | Легкая степень | | Средняя степень | | Частично-контролируемая | | Неконтролируемая | |
| | До ИГХВ | После ИГХВ | До ИГХВ | После ИГХВ | До ИГХВ | После ИГХВ | До ИГХВ | После ИГХВ | До ИГХВ | После ИГХВ |
| MUC5AC / MUC5B | 0,97** | 0,84*** | 0,96*** | 0,84*** | 0,98*** | - | 0,96*** | 0,91** | 0,98*** | 0,76* |
| MUC5AC / ОУ | - | 0,71** | - | - | 0,90** | 0,88** | -0,75* | - | 0,91*** | 0,87** |
| MUC5B / ОУ | - | 0,53* | - | - | 0,88** | 0,82* | -0,90** | -0,76* | 0,85** | 0,82* |
| MUC5AC / MOC ₅₀ | - | - | - | -0,75* | - | - | - | - | - | - |
| MUC5B / MOC ₅₀ | - | - | - | -0,76* | - | - | - | -0,77* | - | - |
| ОУ / ΔОФV ₁ | - | - | 0,94** | - | - | - | - | - | - | - |
| MUC5B / ΔОФV ₁ | -0,56* ¹ | - | - | - | - | - | - | -0,76* | - | - |

Примечание: * – достоверность корреляции между показателями: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001; прочерк «-» указывает на отсутствие корреляции; ¹значение для концентрации муцина MUC5B в лаважной жидкости.

Следует подчеркнуть, что по мере прогрессирования заболевания у больных с БА средней степени тяжести и неконтролируемым течением терялась связь между вентиляционной функцией легких, базовым содержанием обоих муцинов и ОУ в назальном лаваже, а также их продукцией после холодовой провокации.

Обсуждение результатов исследования

Как известно, БА легкой и средней степени тяжести сопровождается гиперплазией бокаловидных клеток дыхательных путей и нарушениями экспрессии муцинокодирующих генов. Секрция муцина MUC5AC значительно возрастает при астме и других респираторных заболеваниях. Напротив, MUC5B постоянно секретируется клетками слизистых желез в трахеобронхиальном дереве, и его содержание меняется при БА в меньшей степени [8]. Сходное распределение муцинов обнаружено в нормальной слизистой носа: MUC5B был обнаружен в секреторных железах подслизистой и бокаловидных клетках эпителия, MUC5AC был обнаружен только в бокаловидных клетках эпителия [11], хотя в другом исследовании было показано, что MUC5B локализован исключительно в железах подслизистой носа человека, но не в эпителии [4]. В слизистой синусов здоровых людей белки MUC5AC и MUC5B присутствовали, соответственно, в эпителии синусов и железах подслизистой, однако при хроническом риносинусите MUC5B находился также в бокаловидных клетках слизистой [14]. Обнаруженная нами тесная корреляция между исходным содержанием MUC5AC и MUC5B, а также близкий характер изменений этих муцинов после холодовой провокации у больных БА скорее свидетельствует об общем месте их биосинтеза, возможно, в бокаловидных клетках эпителия, хотя нельзя исключать общую реакцию поверхностного эпителия и желез подслизистой на холодный воздух. Стоит отметить, что при воздействии агонистов рецепторов TRPV1 и TRPA1 капсаицина и горчичного

масла, соответственно, на назальный эпителий человека, наблюдали усиление секреции только для MUC5B, который характерен для желез, тогда как уровень MUC5AC изменялся мало [4].

Полученная обратная корреляция между изменением проходимости дыхательных путей в ответ на ИГХВ и содержанием муцинов MUC5AC и, особенно, MUC5B заслуживает внимания, поскольку, если верно предположение об общности реакций верхних и нижних дыхательных путей на местные и системные воздействия [15], то умеренная секреция этих муцинов у лиц с легкой степенью и контролируемым течением астмы может предохранять дыхательные пути от негативного воздействия холодного воздуха.

У лиц, высокочувствительных к холоду, при вдыхании холодного воздуха через нос развиваются ринорея, заложенность носа и чувство жжения. У таких лиц в назальном лаваже, отобранном после ИГХВ, были обнаружены маркеры активации тучных клеток (гистамин, простагландин D2, триптаза), активации желез и экссудации плазмы [6]. В экспериментах *in vitro* активация рецептора TRPM8 холодом или его химическим агонистом ментолом вызывала усиление секреции MUC5AC в эпителиальных клетках бронхов человека [16]. Полученные нами результаты по содержанию ОУ в лаважной жидкости до и после ИГХВ согласуются с этими наблюдениями. Однако у большинства участников эксперимента в настоящем исследовании содержание MUC5AC и MUC5B в полученных образцах снижалось после холодовой провокации. Расхождения результатов по ОУ и индивидуальным муцинам могут отражать более сложный характер реакции слизистой носа на холодный воздух. Повышение ОУ может свидетельствовать о трансудации плазмы крови при вдыхании холодного воздуха в результате потери воды в условиях низкой температуры и гипервентиляции, повышения осмолярности слизистого секрета и активации тучных клеток [6]. Глюкоза может проникать

вместе с плазмой в лаважную жидкость, повышая содержание ОУ. Однако снижение MUC5AC и MUC5B может отражать естественные процессы *in vivo*, так как помимо этих муцинов в слизистой носа и синусов синтезируются и другие – MUC1, MUC2, MUC4, MUC8 – в различных комбинациях и в разной степени, причем железы подслизистой играют более важную роль, чем поверхностный эпителий [5]. Тесная взаимосвязь содержания MUC5AC, MUC5B и ОУ до и после ИГХВ говорит в пользу того, что эти муцины вносят существенный вклад в общее содержание муцинов, образованных слизистой носа, в группах со среднетяжелым и неконтролируемым течением астмы (положительная корреляция с $r \geq 0,82$) по сравнению с легкой БА (отсутствии корреляций) и, особенно, в группе с контролируемым течением (отрицательная корреляция).

Наконец, любые изменения углеводного состава или белковой компоненты секретируемых муцинов после холодовой провокации могут влиять на специфичность антител, использованных при ИФА, к этим муцинам, поскольку согласно руководству производителя антитела вероятнее взаимодействуют с конформационным, чем с линейным эпитопом. Ранее было высказано предположение, что контролируемое протеолитическое расщепление муцинов в результате процессинга приводит к образованию макромолекул различной структуры, обеспечивая основу для приспособления свойств секрета к местным физиологическим требованиям [7]. Однако факторы микроокружения также могут влиять на состояние муцинов, секретируемых в просвет дыхательных путей. Присутствующая инфекция или собственные иммунные клетки могут выделять протеазы, способные расщеплять муцины MUC5AC и MUC5B дыхательной системы [13]. Все эти факторы могут маскировать реальную реакцию слизистой на холодный воздух и должны учитываться при проведении экспериментов в условиях *in vivo*.

Выводы

1. Секрета общих муцинов слизистой носа, измеренных на основе углеводной компоненты, возрастает после воздействия холодного воздуха. Это увеличение не соответствует изменениям содержания основных муцинов – MUC5AC и MUC5B, поскольку у большинства пациентов содержание данных муцинов не изменялось либо снижалось после ингаляции холодным воздухом.

2. Больные БА средней степени тяжести и с неконтролируемым течением болезни имели более высокие уровни секрета муцинов, измеренных как ОУ, чем соответствующие группы больных БА легкой степени тяжести и с частично контролируемым течением.

3. Высокая степень корреляции между содержанием муцинов MUC5AC и MUC5B и изменениями в их содержании после дыхания холодным воздухом свидетельствует в пользу общего места их биосинтеза в слизистой носа у больных БА.

4. Обнаруженные корреляции между содержанием муцинов и параметрами вентиляционной функции легких подтверждают возможность использования слизистой носа в качестве модели для изучения секреции

муцинов в развитии холодовой гиперреактивности дыхательных путей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горячкина Н.М., Чжоу С.Д., Ли Ц. Значение показателей оксидативного стресса у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2010. Вып.38. С.12–15.
2. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с.
3. Перельман Ю.М., Приходько А.Г. Диагностика холодовой гиперреактивности дыхательных путей: методические рекомендации. Благовещенск, 1998. 8 с.
4. TRPV1 and TRPA1 stimulation induces MUC5B secretion in the human nasal airway in vivo / L.Alenmyr [et al.] // Clin. Physiol. Funct. Imaging. 2011. Vol.31, №6. P.435–444.
5. Ali M.-S. Nasosinus mucin expression in normal and inflammatory conditions // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. 2009. Vol.9, №1. P.10–15.
6. Cruz A.A., Togias A. Upper airways reactions to cold air // Curr. Allergy Asthma Rep. 2008. Vol.8, №2. P.111–117.
7. Respiratory tract mucins: structure and expression patterns / J.R.Davies [et al.] // Novartis Found. Symp. 2002. Vol.248. P.76–88.
8. Evans C.M., Koo J.S. Airway mucus: The good, the bad, the sticky // Pharmacol. Therapeut. 2009. Vol.121, №3. P.332–348.
9. Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma – Full Report 2007. U.S. Department of Health, National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute. URL: <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.htm>.
10. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2014). URL: <http://www.ginasthma.com>.
11. Distribution of respiratory mucin proteins in human nasal mucosa / D.A.Groneberg [et al.] // Laryngoscope. 2003. Vol.113, №3. P.520–524.
12. Role of MUC5AC in the pathogenesis of exercise-induced bronchoconstriction / T.S.Hallstrand [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. 2007. Vol.119, №5. P.1092–1098.
13. Serine proteases degrade airway mucins in cystic fibrosis / M.O.Henke [et al.] // Infect. Immun. 2011. Vol.79, №8. P.3438–3444.
14. Up-regulation of MUC5AC and MUC5B mucin genes in chronic rhinosinusitis / D.H.Kim [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. 2004. Vol.130, №6. P.747–752.
15. Krouse J.H., Krouse H.J. Asthma, rhinitis, and the unified airway // ORL Head Neck Nurs. 2013. Vol.31, №4. P.6–10.
16. Cold temperature induces hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism / M.C.Li [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. 2011. Vol.128, №3. P.626–634.
17. Exercise in cold air and hydrogen peroxide release

in exhaled breath condensate / E.Marek [et al.] // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013. Vol.756. P.169–177.

18. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format / T.Masuko [et al.] // *Anal. Biochem.* 2005. Vol.339, №1. P.69–72.

19. General considerations for lung function testing / M.R.Miller [et al.] // *Eur. Respir. J.* 2005. Vol.26, №1. P.153–161.

20. Dynamics of oxidative stress parameters in exhaled breath condensate at controller treatment of bronchial asthma in patients with cold airway hyperresponsiveness / J.M.Perelman [et al.] // *Eur. Respir. J.* 2011. Vol.38, Suppl.55. P.3913.

REFERENCES

1. Goriachkina N.M., Zhou S.D., Li Q. *Bülleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2010; 38:12–15.

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

3. Perelman J.M., Prikhodko A.G. The diagnosis of cold airway hyperresponsiveness: methodic guidelines. Blagoveshchensk; 1998.

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

5. Ali M.-S. Nasosinus mucin expression in normal and inflammatory conditions. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 9(1):10–15.

6. Cruz A.A., Togias A. Upper airways reactions to cold air. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2008; 8(2):111–117.

7. Davies J.R., Herrmann A., Russell W., Svitacheva N., Wickström C., Carlstedt I. Respiratory tract mucins: structure and expression patterns. *Novartis Found. Symp.* 2002; 248: 76–88.

8. Evans C.M., Koo J.S. Airway mucus: The good, the bad, the sticky. *Pharmacol. Therapeut.* 2009; 121(3):332–348.

9. Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma – Full Report 2007. U.S. Department of Health, National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute. Available at: www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.htm.

10. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated

2014). Available at: www.ginasthma.com.

11. Groneberg D.A., Peiser C., Dinh Q.T, Matthias J., Eynott P.R., Heppt W., Carlstedt I., Witt C., Fischer A., Chung K.F. Distribution of respiratory mucin proteins in human nasal mucosa. *Laryngoscope* 2003; 113(3):520–524.

12. Hallstrand T.S., Debley J.S., Farin F.M., Henderson W.R.Jr. Role of MUC5AC in the pathogenesis of exercise-induced bronchoconstriction. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007; 119(5):1092–1098.

13. Henke M.O., John G., Rheineck C., Chillappagari S., Naehrlich L., Rubin B.K. Serine proteases degrade airway mucins in cystic fibrosis. *Infect. Immun.* 2011; 79(8):3438–3444.

14. Kim D.H., Chu H.S., Lee J.Y., Hwang S.J., Lee S.H., Lee H.M. Up-regulation of MUC5AC and MUC5B mucin genes in chronic rhinosinusitis. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2004; 130(6):747–752.

15. Krouse J.H., Krouse H.J. Asthma, rhinitis, and the unified airway. *ORL Head Neck Nurs.* 2013; 31(4):6–10.

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

17. Marek E., Volke J., Mückenhoff K., Platen P., Marek W. Exercise in cold air and hydrogen peroxide release in exhaled breath condensate. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013; 756:169–177.

18. Masuko T., Minami A., Iwasaki N., Majima T., Nishimura S., Lee Y.C. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Anal. Biochem.* 2005; 339(1):69–72.

19. Miller M.R., Crapo R., Hankinson J., Brusasco V., Burgos F., Casaburi R., Coates A., Enright P., van der Grinten C.P., Gustafsson P., Jensen R., Johnson D.C., MacIntyre N., McKay R., Navajas D., Pedersen O.F., Pellegrino R., Viegi G., Wanger J. General considerations for lung function testing. *Eur. Respir. J.* 2005; 26(1):153–161.

20. Perelman J.M., Goryachkina N.M., Prikhodko A.G., Borodin E.A. Dynamics of oxidative stress parameters in exhaled breath condensate at controller treatment of bronchial asthma in patients with cold airway hyperrespon-

Поступила 11.07.2014

Контактная информация

Эдуард Витальевич Некрасов,

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы,

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: ed_nekrasov@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Eduard V. Nekrasov,

PhD, Senior staff scientist of Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration SB RAMS,

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

E-mail: ed_nekrasov@mail.ru