

Взаимосвязь курения с холодной гиперреактивностью дыхательных путей и течением деструктивно-цитолитических процессов в бокаловидном эпителии бронхов больных бронхиальной астмой

Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Колосов В.П., Перельман Ю.М.

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД)
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

Введение. Табакокурение больных бронхиальной астмой (БА) может усилить повреждение слизистой оболочки бронхов и существенно ухудшить течение заболевания.

Цель. Оценить влияние табакокурения на клинические проявления болезни, реакцию дыхательных путей на воздействие холодного воздуха, деструктивно-цитолитические процессы в бокаловидном эпителии бронхов больных БА.

Материалы и методы. У 145 больных БА определяли уровень контроля над заболеванием по данным вопросника Asthma Control Test, функцию легких (ОФВ₁, %), реакцию дыхательных путей (ΔОФВ₁, %) на 3-минутную изокапническую гипервентиляцию холодным (–20 °С) воздухом (ИГХВ), осуществляли сбор индуцированной мокроты (ИМ). В цитограммах ИМ определяли процентное содержание, индекс деструкции клеток (ИДК) и интенсивность цитолиза (ИЦ), гистохимически – активность миелопероксидазы (МПО) и содержание гликопротеинов. В группу 1 включены 102 некурящих лица, в группу 2 – 43 курящих.

Результаты. В ИМ больных группы 2 по сравнению с группой 1 найдено усиление деструктивной (ИДК = 0,47 ± 0,02 и 0,40 ± 0,02 соответственно, $p = 0,044$) и цитолитической активности бокаловидных клеток (ИЦ = 0,22 ± 0,03 и 0,15 ± 0,02 соответственно, $p = 0,047$) с преобладанием количества полностью разрушенных клеток ((21,7 ± 2,4) и (14,5 ± 1,6)%, $p = 0,043$) и снижением клеток нормальной структуры ((52,5 ± 2,1) и (60,5 ± 3,1)%, $p = 0,047$). Для курящих характерно высокое содержание нейтрофилов в ИМ ((34,1 ± 3,0) и (23,9 ± 1,4)% соответственно, $p = 0,0006$) и уровня миелопероксидазы в гранулоцитах бронхов ((94,3 ± 5,4) и (80,7 ± 3,6) пикселей, $p = 0,037$). Курящие активнее реагировали на ИГХВ (ΔОФВ₁ = (–13,7 ± 2,6) и (–7,9 ± 1,2)% соответственно, $p = 0,032$), и степень реакции коррелировала с показателями деструктивно-цитолитической активности клеток ИМ.

Заключение. Табакокурение у больных БА приводит к нарушению структуры бокаловидного эпителия бронхов с усилением деструктивно-цитолитических процессов, что сопровождается снижением уровня содержания гликопротеинов в цитоплазме, увеличением секреторной активности бокаловидных клеток, нейтрофилией, усилением оксидативной пероксидазной активности гранулоцитов, ухудшением бронхиальной проходимости и усилением реакции дыхательных путей на воздействие холодного воздуха.

Ключевые слова: бронхиальная астма, табакокурение, холодная гиперреактивность дыхательных путей, бокаловидные клетки, гранулоциты, воспаление, оксидативный стресс.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет средств государственного задания ДНЦ ФПД.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (протокол № 120/1 от 25.10.2017).

✉ Перельман Юлий Михайлович, e-mail: jperelman@mail.ru.

Благодарность. Выражаем признательность кандидату медицинских наук Зиновьеву Сергею Васильевичу за сотрудничество и помощь в обработке цитологического материала.

Для цитирования: Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Колосов В.П., Перельман Ю.М. Взаимосвязь курения с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей и течением деструктивно-цитолитических процессов в бокаловидном эпителии бронхов больных бронхиальной астмой. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019; 18 (3): 90–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-90-100>.

УДК 616.248-001.19-02:613.84:612.29
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-90-100>

The influence of smoking on the formation of airway hyperresponsiveness to cold and the course of destructive-cytological processes in the goblet cells of the bronchial epithelium in patients with asthma

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Perelman Ju.M.

*Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology
22, Kalinina Str., Blagoveschensk, 675000, Russian Federation*

ABSTRACT

Tobacco smoking in patients with asthma can intensify the bronchi mucosa damage and significantly worsen the course of the disease.

Aim. To assess the influence of tobacco smoking on the clinical manifestations of the disease, airway response to cold air exposure and destructive-cytological processes in the goblet cells of bronchial epithelium in patients with asthma.

Materials and methods. In 145 patients with asthma their asthma control level was determined by the Asthma Control Test, lung function (FEV_1 , %) and airway response (ΔFEV_1 , %) to a 3-minute isocapnic hyperventilation (-20°C) of cold air (IHCA) were evaluated, and induced sputum (IS) was collected. In cytograms of IS a percentage content, the index of cell destruction (ICD) and the index of cytolysis intensiveness (IC) were assessed; histochemically the activity of myeloperoxidase (MPO) and the contents of glycoproteins were identified. The 1st group included 102 non-smokers and the 2nd group included 43 smokers.

Results. In IS of patients of the 2nd group in comparison with the 1st one we found intensification of the destructive ($ICD = 0.47 \pm 0.02$ and 0.40 ± 0.02 , respectively, $p = 0.044$) and cytolytic activity of goblet cells ($IC = 0.22 \pm 0.03$ and 0.15 ± 0.02 , respectively, $p = 0.047$) with the domination of the number of completely destroyed cells (21.7 ± 2.4 vs. $14.5 \pm 1.6\%$, $p = 0.043$) and the decrease in the number of cells with a normal structure (52.5 ± 2.1 vs. $60.5 \pm 3.1\%$, $p = 0.047$). For smokers it was typical to have high contents of neutrophils in IS (34.1 ± 3.0 vs. $23.9 \pm 1.4\%$, respectively, $p = 0.0006$) and high level of myeloperoxidase in granulocytes of bronchi (94.3 ± 5.4 vs. 80.7 ± 3.6 pixels, $p = 0.037$). Smokers responded more actively to IHCA (ΔFEV_1 was -13.7 ± 2.6 vs. $-7.9 \pm 1.2\%$, respectively, $p = 0.032$), and the degree of the response correlated with the indices of destructive-cytological activity of IS cells.

Conclusion. Tobacco smoking in patients with asthma leads to the disturbance of the structure of goblet epithelium in the bronchi with the intensification of destructive-cytological processes, which is accompanied by a decrease in the level of glycoproteins in cytoplasm, an increase in the secretory activity of the goblet cells, neutrophilia, growth of oxidative peroxidase activity of granulocytes, worsening of the bronchial conductance, and intensification of airway response to cold air.

Key words: asthma, tobacco smoking, airway hyperresponsiveness to cold, goblet cells, granulocytes, inflammation, oxidative stress.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the state order of the Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology.

Conformity with the principles of ethics. All patients included in the study signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology (Protocol No. 120/1 of 25.10.2017).

Acknowledgements. The authors would like to thank S.V. Zinovyiev, Candidate of Medical Science, for collaboration and assistance in processing cytological material.

For citation: Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Perelman Ju.M. The influence of smoking on the formation of airway hyperresponsiveness to cold and the course of destructive-cytological processes in the goblet cells of the bronchial epithelium in patients with asthma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 90–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-90-100>.

ВВЕДЕНИЕ

Курение табака играет важную роль в патогенезе заболеваний бронхолегочного аппарата в связи с тем, что органы дыхания являются основной мишенью воздействия табачного дыма [1, 2]. У больных бронхиальной астмой (БА) курение увеличивает частоту и тяжесть респираторных симптомов, ускоряет темпы снижения легочных функций [3], усиливает степень тяжести астмы [4], снижает ответ на ингаляционные и системные глюкокортикостероиды [5], а также другие противоастматические препараты [6], уменьшает вероятность достижения контроля болезни, повышает частоту обострений и госпитализаций, увеличивает риск смерти от астмы [7], снижает качество жизни [8].

Прогрессирование нарушения вентиляционной функции легких при табакокурении поддерживается хроническим воспалением и ремоделированием дыхательных путей, обусловленными оксидативным повреждением, бокаловидно-клеточной гиперплазией и плоскоклеточной метаплазией бронхиального эпителия, продукцией провоспалительных медиаторов и цитокинов активированными нейтрофилами и макрофагами, разрушением соединительнотканного матрикса нейтрофильными протеиназами, интерстициальным фиброзом, гиперсекрецией бронхиальной слизи и мукоцилиарной недостаточностью [2]. Кроме того, в настоящее время курение рассматривается в ряду механизмов бронхиальной гиперреактивности, достоверный риск развития которой у курильщиков характеризуется доза-эффект-зависимостью, а увеличение тяжести коррелирует с нарастанием интенсивности и продолжительности курения, выраженных в показателе «пачка/лет» [9].

В выполненных нами ранее работах установлено, что индукция нейтрофилами повреждения и некроза бронхиального эпителия у больных БА опосредована осуществляемым при дегрануляции, деструкции и цитолизе гранулоцитов экзоцитозом лизосомальных ферментов, в частности миелопероксидазы [10], обеспечивающей гене-

рацию наряду с активными формами кислорода (АФК) высокоактивных форм галогенов, что, в свою очередь, приводит к утяжелению течения болезни [11].

Сочетанное влияние табакокурения и такого потенциально бронхопровоцирующего экзогенного триггера, как низкая температура атмосферного воздуха, на архитектуру слизистой оболочки бронхов, может служить важным фактором формирования эпителиальной и мукоцилиарной дисфункции в ассоциации с морфофункциональными преобразованиями структурного и ферментативно-оксидантного статуса нейтрофильного сегмента воспалительного инфильтрата.

Целью настоящей работы явилось изучение взаимосвязи табакокурения с клиническими проявлениями болезни, реакцией дыхательных путей на воздействие холодного воздуха и течением деструктивно-цитолитических процессов в бокаловидном эпителии бронхов больных БА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 145 больных легкой персистирующей БА [12] в период наступления низких температур (-5°C и ниже) окружающей среды (октябрь – апрель). Из них 93 (64%) женщины, 52 (36%) мужчины, средний возраст ($40,5 \pm 1,2$) лет, рост – ($168,4 \pm 0,8$) см, вес – ($80,4 \pm 1,3$) кг. Критерием включения в клиническое исследование являлись: базовое значение $\text{ОФВ}_1 \geq 75\%$ от должной величины, терапия ингаляционными кортикостероидами в виде монотерапии либо в сочетании с длительно действующими β_2 -агонистами в соответствии со степенью тяжести заболевания, отсутствие острой респираторной инфекции, патологии других органов и систем, влияющей на результаты исследования, в течение предшествующих 4 нед до взятия биологического материала и проведения клинико-функционального тестирования.

Клиническое исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с

участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания.

Дизайн работы предполагал оценку уровня контроля над заболеванием по данным вопросника Asthma Control Test (ACT, Quality Metric Inc., 2002), в баллах, исследование функции внешнего дыхания посредством спирометрии форсированного выдоха (Easy on-PC, nddMedizintechnik AG, Швейцария) с определением показателей ОФВ₁, ФЖЕЛ, ОФВ₁/ФЖЕЛ, ПОС, МОС₅₀, СОС₂₅₋₇₅ и последующей проверкой на обратимость обструкции (ΔОФВ_{1Б}, %) после введения β₂-агониста (сальбутамол), выявление гиперреактивности дыхательных путей (ΔОФВ_{1ИГХВ}, %) путем проведения 3-минутной изокапнической гипервентиляции холодным (-20 °С) воздухом (ИГХВ) [13], сбор индуцированной мокроты (ИМ) по стандартной методике [14].

Цитологическое исследование индуцированной мокроты (ИМ) пациентов проводили не позднее 2 ч после ее получения. Отбирался материал с минимальным уровнем контаминации плоскоклеточным эпителием. Подсчитанное количество клеток (нейтрофилов, эозинофилов, макрофагов, лимфоцитов, клеток бронхиального эпителия и бокаловидных клеток) выражали в процентах от общего числа. Степень деструкции и интенсивности цитолиза бронхиального эпителия, бокаловидных клеток, эозинофилов и нейтрофилов определяли по методу Л.А. Матвеевой [15]. Выделяли пять классов деструкции клеток в зависимости от изменений структурной целостности клеточных элементов: 0 – нормальная структура; I – частичное (не более 1/2) деструктивное повреждение цитоплазмы, нормальная структура ядра; II – значительная (более 1/2), но неполная деструкция цитоплазмы, частичное повреждение ядра; III – полная деструкция цитоплазмы, значительная деструкция ядра; IV – полная деструкция с распадом цитоплазмы и ядра. Вычисляли суммарный индекс деструкции клеток (ИДК) и индекс интенсивности цитолиза (ИЦ как отношение наиболее разрушенных клеток к содержанию остальных поврежденных клеток):

$$\text{ИДК} = \frac{n_1 + n_2 + n_3 + n_4}{100};$$

$$\text{ИЦ} = \frac{n_4}{n_0 + n_1 + n_2 + n_3 + n_4},$$

где 0, 1, 2, 3, 4 – номера классов деструкции; n_1 , n_2 , n_3 , n_4 – количество клеток соответствующего класса.

Цитохимическое исследование активности миелопероксидазы (МПО) нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов в цитологических мазках ИМ проводили по методу Грэхема – Кнолля с докраской мазков после обработки бензидином и перекисью водорода водным раствором азура-2 [16]. Изображения микропрепаратов получали с помощью цифровой видеокамеры ДСМ 510 с системой захвата изображения. Для цифровой обработки изображений клеток использовали компьютерные программы Image Tool и Optika Vision Pro (Италия), Mac Biophotonics Image S (США). На основании полученных данных рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) активности МПО в пикселях.

Для изучения содержания гликопротеинов в бокаловидном эпителии после фиксации препаратов в формалине использовали метод окраски цитологических мазков альциановым синим, электроинтивно выявляющим муцины (гликопротеины, кислые гликозаминогликаны – ГАГ) в цитоплазме бокаловидных клеток [17]. Уровень содержания гликопротеинов и ГАГ в бокаловидном эпителии оценивали по количеству окрашенных альциановым синим клеток, выраженному в процентах.

Статистический анализ выполнялся на основе стандартных методов вариационной статистики. Проверка на нормальность распределения выборок проводилась методами Колмогорова – Смирнова и Пирсона – Мизеса. Количественные значения исследуемых параметров представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего $M \pm m$. Для определения уровня статистической значимости различий между группами в случае нормального распределения использовали непарный *t*-критерий Стьюдента. Различие считалось достоверным при $p < 0,05$. В случаях отклонения закона распределения в выборке от нормального для сравнения использовали непараметрический критерий Колмогорова – Смирнова. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами проводили корреляционный анализ, рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона *r*. Корреляция считалась значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам обследования больные БА были разделены на следующие группы. В группу

1 вошли 102 некурящих лица, в группу 2 – 43 курящих и ранее куривших пациента (ИК в среднем $(14,8 \pm 2,1)$ пачка/лет, 5–40 сигарет в сутки). Среди них активно курили 55% больных (в 21% случаев стаж курения превышал 10 пачка/лет, в 33% – 20 пачка/лет), 45% больных курили в прошлом, прекратив курение после выявления астмы. Обращает на себя внимание практически равное количество курящих лиц мужского и женского

пола (56 и 44% соответственно).

При оценке основных клинических и функциональных параметров состояния больных на момент проведения исследования (табл. 1) не выявлено существенных различий по уровню контроля над заболеванием: 69% больных группы 1 и 74% больных группы 2 последние 4 нед, по данным АСТ, характеризовались отсутствием контроля над астмой на фоне применяемой терапии (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Сравнительная клиничко-функциональная характеристика больных БА, $M \pm m$			
Comparative clinical characteristics and indices of the lung function in the studied groups, $M \pm m$			
Показатель Parameter	Группа 1, $n = 102$ Group 1, $n = 102$	Группа 2, $n = 43$ Group 2, $n = 43$	p
Возраст, лет Age, years	$42,1 \pm 1,0$	$39,8 \pm 1,4$	0,210
ОФВ ₁ , % долж. FEV ₁ , % from predicted value	$92,7 \pm 1,6$	$87,8 \pm 2,9$	0,131
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, % FEV ₁ /FVC, % from predicted value	$73,4 \pm 0,7$	$70,3 \pm 1,4$	0,034
ПОС, % долж. PEFR, % from predicted value	$100,4 \pm 2,1$	$91,7 \pm 3,3$	0,023
МОС ₅₀ , % долж. MEF ₅₀ , % from predicted value	$69,4 \pm 2,8$	$61,1 \pm 3,1$	0,047
МОС ₂₅₋₇₅ , % долж. MEF ₂₅₋₇₅ , % from predicted value	$67,2 \pm 2,6$	$60,1 \pm 2,8$	0,062
Δ ОФВ ₁ ИГХВ, % Δ FEV ₁ after IHCA, %	$-7,9 \pm 1,2$	$-13,7 \pm 2,6$	0,032
Δ ОФВ ₁ БА*, % Δ FEV ₁ after the bronchodilator test with salbutamol, %	$8,5 \pm 1,0$	$14,9 \pm 2,6$	0,007
АСТ, баллы ACT, scores	$16,6 \pm 0,5$	$16,2 \pm 0,8$	0,591

Примечание. Здесь и в табл. 4: ИГХВ – изменение показателя в ответ на пробу ИГХВ; БА – бронходилататор, изменение показателя в ответ на введение β_2 -агониста, ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за первую секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; ПОС – пиковая объемная скорость; МОС – мгновенная объемная скорость.
Note. Here and in Table 4: IHCA – change of the parameter in response to the IHCA test; FEV₁ – forced expiratory volume, 1 second, FVC – forced vital capacity of the lungs; PEFR – peak expiratory flow rate; MEF – maximum expiratory flow.

В то же время при спирометрическом исследовании зарегистрированы более низкие значения показателей функции внешнего дыхания у курящих лиц и достоверно более высокий прирост ОФВ₁ в ответ на введение β_2 -агониста. При проведении пробы ИГХВ данные пациенты активнее реагировали на бронхопровокацию холодным воздухом. В свою очередь, это было сопряжено с более значимой гиперплазией бронхиального бокаловидного эпителия, судя по увеличению в цитограммах ИМ количества бокаловидных клеток (табл. 2). Фоном для интенсификации бокаловидно-клеточной гиперплазии у больных группы 2 являлись увеличение количества нейтрофилов и снижение числа эозинофилов в воспалительном инфильтра-

те бронхов, что отмечалось одновременно с достоверным снижением уровня макрофагов и повышению цитоза мокроты (см. табл. 2). Показатели уровня синтеза и депонирования пероксидазы в гранулоцитах также достигали максимума в группе 2, о чем свидетельствовали значения СЦК МПО нейтрофилов и эозинофилов (см. табл. 2).

Экзоцитоз МПО в группе 2 преобладал только в отношении дегранулирующих и деструктурированных эозинофилов, ИДК которых был достоверно выше, чем в группе 1 (см. табл. 2). Вероятно, это было связано с более интенсивным накоплением в дыхательных путях курильщиков пероксидазы гранулярных лейкоцитов, преимущественно нейтрофильных.

Таблица 2
Table 2

Клеточный состав индуцированной мокроты и показатели деструктивно-цитолитической активности нейтрофилов и эозинофилов у больных БА, $M \pm m$
Cellular composition of induced sputum and the indices of destruction and intensity of cytolysis of neutrophils and eosinophils in patients with asthma, $M \pm m$

Показатель Parameter	Группа 1, $n = 102$ Group 1, $n = 102$	Группа 2, $n = 43$ Group 2, $n = 43$	p
Цитоз, % Cytosis, %	$2,8 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,38$	0,672
Нейтрофилы, % Neutrophils, %	$23,9 \pm 1,4$	$34,1 \pm 3,0$	0,0006
Макрофаги, % Macrophages, %	$52,7 \pm 1,6$	$44,0 \pm 2,9$	0,007
Эозинофилы, % Eosinophils, %	$19,6 \pm 1,2$	$15,0 \pm 1,9$	0,034
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	$2,9 \pm 0,17$	$3,1 \pm 0,50$	0,663
БЭ, % Bronchial epithelium, %	$1,7 \pm 0,21$	$1,5 \pm 0,38$	0,701
БК, % Goblet cells, %	$0,10 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,08$	0,634
ГП БК, % Number of goblet cells containing glycoproteins, %	$56,7 \pm 7,3$	$47,3 \pm 8,7$	0,543
СЦК МПО, пиксель MPO, pixels	$79,1 \pm 3,5$	$96,6 \pm 9,1$	0,031
ИЦ нейтрофилов, усл. ед IC of neutrophils, units	$0,44 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,04$	0,535
ИЦ эозинофилов, усл. ед IC of eosinophils, units	$0,28 \pm 0,03$	$0,23 \pm 0,03$	0,874
ИДК нейтрофилов, усл. ед ICD of neutrophils, units	$0,49 \pm 0,02$	$0,47 \pm 0,03$	0,893
ИДК эозинофилов, усл. ед ICD of eosinophils, units	$0,39 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,02$	0,043

Примечание. БЭ – бронхиальный эпителий; БК – бокаловидные клетки; ГП БК – количество бокаловидных клеток, содержащих гликопротеины; СЦК МПО – средний цитохимический коэффициент активности миелопероксидазы; ИЦ – индекс деструкции клеток; ИДК – индекс интенсивности цитолиза.

Note. Here and in Table 3: MPO – myeloperoxidase; ICD – index of cell destruction; IC – index of cytolysis.

Резервирование в бронхах курящих пациентов большого количества нейтрофильной МПО, очевидно, связано с усугублением окислительно-восстановительного дисбаланса путем снижения на определенных этапах активности деструкции и цитолиза нейтрофилов с целью дальнейшей наиболее эффективной индукции праймированными нейтрофилами воспаления и оксидативного стресса в результате накопления в лизосомальных цитоплазматических гранулах окислительно-ферментативного запаса.

Количество бокаловидных эпителиоцитов, дающих положительную цитохимическую реакцию на гликопротеины и ГАГ, преваляло в группе 1 (табл. 2). В группе 2 прослеживалось падение

уровня гликопротеинов в бокаловидных клетках, что подтверждалось, наряду с признаками более выраженной дезорганизации бокаловидного эпителия, более значимой деструктивно-цитолитической и секреторной муциновой эпителиальной активностью, обуславливающей высвобождение мукопротеидов из цитоплазмы бокаловидных клеток (табл. 3).

Так, показатели ИДК БК и ИЦ БК, характеризующие деструктивную и цитолитическую активность бокаловидных клеток, у курящих пациентов были выше, чем у лиц группы 1. В мокроте курящих больных преваляло содержание бокаловидных клеток, подвергшихся наибольшему разрушению: II, III и IV классов деструкции.

Таблица 3
Table 3

Индексы деструкции клеток и интенсивности цитолиза бронхиального эпителия и бокаловидных клеток, классы деструкции клеток бронхиального эпителия и бокаловидных клеток больных БА, $M \pm m$ Indices of destruction and cytolysis of bronchial epithelium and goblet cells, classes of destruction of cells in patients with asthma, $M \pm m$			
Показатель Parameter	Группа 1, $n = 102$ Group 1, $n = 102$	Группа 2, $n = 43$ Group 2, $n = 43$	p
Бронхиальный эпителий Bronchial epithelium			
ИДК ICD	0,55 ± 0,02	0,47 ± 0,03	0,039
ИЦ IC	0,43 ± 0,02	0,32 ± 0,03	0,010
N_0	45,3 ± 2,1	53,4 ± 2,6	0,050
N_1	8,1 ± 0,84	9,7 ± 1,4	0,362
N_2	2,8 ± 0,23	4,3 ± 0,55	0,004
N_3	1,1 ± 0,18	1,7 ± 0,40	0,375
N_4	42,5 ± 2,4	31,5 ± 2,9	0,013
Бокаловидные клетки Goblet cells			
ИДК ICD	0,40 ± 0,02	0,47 ± 0,02	0,044
ИЦ IC	0,15 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,047
N_0	60,5 ± 3,1	52,5 ± 2,1	0,047
N_1	15,4 ± 2,4	14,5 ± 1,7	0,808
N_2	6,8 ± 0,89	8,7 ± 0,86	0,146
N_3	2,8 ± 0,76	2,9 ± 0,96	0,934
N_4	14,5 ± 1,6	21,7 ± 2,4	0,043

Примечание. N_0, N_1, N_2, N_3, N_4 – количество клеток 0, I, II, III, IV классов деструкции, %.
Note. N_0, N_1, N_2, N_3, N_4 – the number of cells of the corresponding class of destruction, %.

Содержание наименее разрушенных бокаловидных клеток I класса деструкции и сохранивших структурную целостность ядра и цитоплазмы бокаловидных клеток 0 класса деструкции, напротив, доминировало в группе 1 (см. табл. 3).

Снижение содержания бронхиального эпителия в цитограммах мокроты курящих лиц по сравнению с некурящими (см. табл. 2), скорее всего, связано с бокаловидно-клеточной гиперплазией эпителиального пласта бронхов и замещением бокаловидными клетками мерцательных и камбиальных клеточных элементов. В мокроте больных группы 2 среди деструктурированных клеток бронхиального эпителия преобладали клетки с 0 по III класс деструкции, тогда как процентное содержание клеток с полной деструкцией с распадом цитоплазмы и ядра (IV класс) присутствовало в достоверно меньшем количестве относительно больных группы 1 (см. табл. 3). Кроме того, у последних были получены более высокие расчетные величины ИДК и ИЦ бронхиального эпителия, что свидетельствовало об уязвимости бронхиального эпителиального пласта в целом у некурящих больных. Курящие пациенты характеризовались приоритетным и более значительным повреждением бокаловидного компонента эпителия, сопровождающимся ростом муциновой активности секреторных клеток и инициирующей оксидативный стресс пероксидазной активности нейтрофильного звена воспалительного паттерна бронхов.

Нами обнаружена тесная корреляционная связь между деструктивно-цитолитической активностью клеточных элементов ИМ и степенью выраженности реакции дыхательных путей в ответ на холодовую бронхопровокацию (табл. 4).

Таблица 4
Table 4

Корреляционные взаимосвязи между деструктивно-цитолитической активностью клеточных элементов ИМ и степенью выраженности реакции дыхательных путей на холодовую бронхопровокацию у курящих астматиков (группа 2) Correlation between the destructive and cytolytic activity of cellular elements in IS and the degree of airway hyperresponsiveness to cold-air bronchoprovocation in smokers with asthma (Group 2)						
Показатель Parameter	ИДК _{БЭ} ICD bronchial epithelium	ИЦ _{БЭ} IC bronchial epithelium	$N_{0\text{БЭ}}$ N_0 bronchial epithelium	$N_{4\text{БЭ}}$ N_4 bronchial epithelium	ИДК _{БК} ICD goblet cells	$N_{0\text{БК}}$ N_0 goblet cells
$\Delta\text{ОФВ}_{1\text{ ИГХВ}}$ $\Delta\text{FEV}_{1\text{ ИНСА}}$	$r = -0,44$; $p = 0,011$	$r = -0,44$; $p = 0,011$	$r = 0,49$; $p = 0,0004$	$r = -0,44$; $p = 0,011$	$r = -0,57$; $p = 0,086$	$r = 0,57$; $p = 0,086$
$\Delta\text{МОС}_{50\text{ ИГХВ}}$ $\Delta\text{FEF}_{50\text{ ИНСА}}$	$r = -0,57$; $p = 0,0001$	$r = -0,42$; $p = 0,016$	$r = 0,57$; $p = 0,0001$	$r = -0,44$; $p = 0,018$	$r = -0,68$; $p = 0,031$	$r = 0,68$; $p = 0,031$
$\Delta\text{МОС}_{25-75\text{ ИГХВ}}$ $\Delta\text{FEF}_{25-75\text{ ИНСА}}$	$r = -0,59$; $p = 0,0004$	$r = -0,49$; $p = 0,004$	$r = 0,60$; $p = 0,0003$	$r = -0,48$; $p = 0,005$	$r = -0,67$; $p = 0,033$	$r = 0,67$; $p = 0,033$

ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, оксидативный стресс лежит в основе механизма формирования гиперреактив-

ности бронхов у курильщиков, а также принимает участие в появлении чрезмерной реакции бронхов на холодовое воздействие у больных астмой

[13]. При вдыхании табачного дыма, содержащего большое количество свободных радикалов, в дыхательных путях курильщиков нарушается равновесие в системе прооксиданты–антиоксиданты с превалированием оксидантов и активацией пула нейтрофилов [2]. Аналогичным образом при бронхоспазме в паренхиме легких усиленно синтезируются АФК, пероксинитрит, гипохлорит [18, 19], модифицирующие активность ядерного транскрипционного фактора NF-kB с последующей стимуляцией экспрессии генов провоспалительных цитокинов [20], увеличением генерации циркулирующих нейтрофилов и миграции гранулоцитов в очаг воспаления [21].

Активация нейтрофилов, установленная у курящих лиц [2], в том числе у курящих больных БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей, обуславливающая в последнем случае высокий уровень дезорганизации и деструкции бокаловидного эпителия, приводит к свободно-радикальному повреждению крист митохондрий и деэнергизации эпителиоцитов, разрушению эндоплазматического ретикулама и гибели клеток [22]. Деэнергизация эпителиоцитов считается альтернативным путем, опосредующим развитие клеточного апоптоза, в отличие от традиционного прямого пути передачи сигналов апоптоза – от лигирования рецептора смерти до активации каспазного каскада и гибели клеток [22]. При астме эпителиальная дисфункция потенцируется низким уровнем экспрессии факторов антиоксидантной защиты, таких как супероксиддисмутаза, которые способствуют увеличению восприимчивости эпителиальных клеток к агрессивному действию оксидантов, в частности продуцируемых гранулоцитами [23].

Ключевым механизмом воспалительного повреждения эпителия со стороны активированных нейтрофилов выступает респираторный взрыв, сопровождаемый экзоцитозом МПО. В результате взаимодействия МПО с H_2O_2 генерируются высокорекреационные галогенсодержащие соединения, модифицирующие функциональные группы белков, липидов, гликопротеинов, нуклеиновых кислот и других жизненно важных молекул [24]. Биологическая конструкция МПО– H_2O_2 конвертирует оксидативный стресс в галогенирующий с образованием, помимо АФК, активных форм галогенов и нарастанием воспалительной альтерации тканей [24].

Выраженное нарушение структурной организации бокаловидного эпителия, эскалация продукции и секреции гликопротеинов и кислых ГАГ, манифестирующие мукостаз и снижение мукоцилиарного клиренса в бронхах, у курящих больных

БА ассоциированы с риском увеличения реакции дыхательных путей на воздействие холодного воздуха и усилением воспаления. Персистенция воспаления базируется у таких пациентов на нейтрофилии бронхиального инфильтрата, способствуя появлению высокой лабильности бронхов в ответ на холодовой стимул и β_2 -агонисты. Согласно данным литературы, гранулоцитарный нейтрофилез и нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей коррелируют с системным воспалением у астматиков, клинические результаты лечения которых оказываются хуже, чем у пациентов с ненейтрофильным фенотипом [25].

В проведенных нами ранее исследованиях, касающихся деструкции эпителия бронхов у больных тяжелой БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей, высокий уровень эпителиальной дисфункции [26], сопряженной с хроническим воспалением, супрессией антиоксидантной и иммунной защиты, ремоделированием бронхов [27], рассматривался в качестве морфологического маркера инертности достижения контроля над болезнью [11]. Массивное повреждение эпителия с преобладанием III и IV классов деструкции служит одним из параметров ремоделирования слизистой оболочки бронхов и ассоциируется со смешанным паттерном бронхиального воспаления, в котором активация нейтрофильного пула оказывает негативное влияние на клиническое течение тяжелой неконтролируемой астмы [11].

Аналогичным образом можно утверждать, что более выраженные бокаловидно-клеточная гиперплазия и активация муциновой секреции у курящих больных БА, индуцирующие на фоне нейтрофилии бронхиального воспалительного инфильтрата мукоцилиарную недостаточность и ремоделирование дыхательных путей, способствуют ухудшению проходимости и появлению высокой лабильности бронхов. Кроме того, наиболее значимая перестройка citoархитектоники десмо-эпителиального барьера слизистой оболочки респираторного тракта у курящих пациентов ассоциируется с усилением реакции дыхательных путей на холодный воздух. Одним из ведущих факторов, инициирующих дезорганизацию и разрушение бокаловидного эпителия и, следовательно, оказывающих негативное влияние на клиническое течение астмы, является рост оксидантной миелопероксидазной активности нейтрофилов и эозинофилов дыхательных путей. Связанная с табакокурением гиперпродукция гранулоцитами МПО, обеспечивающая повышение содержания в экстрацеллюлярном пространстве бронхов АФК и активных форм галогенов, принимает участие в эскалации оксида-

тивного стресса и развитии бронхоспастической реакции больных БА на холодовой триггер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Табакокурение у больных БА приводит к нарушению структуры бокаловидного эпителия бронхов с усилением деструктивно-цитолитических процессов, что сопровождается снижением уровня содержания гликопротеинов в цитоплазме, увеличением секреторной активности бокаловидных клеток, нейтрофилией, усилением оксидативной пероксидазной активности гранулоцитов, инфильтрирующих дыхательные пути. Структурная дезорганизация бокаловидного эпителия, обусловленная активацией нейтрофильного пула бронхиальных гранулоцитов, влечет за собой ухудшение бронхиальной проходимости и усиление реакции дыхательных путей на воздействии холодного воздуха.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гамбарян М.Г. Хронические респираторные заболевания и потребление табака (обзор). *Медицинский совет*. 2016; 17: 144–152. [Gambaryan M.G. Chronic respiratory diseases and tobacco use (review). *Medical Council*. 2016; 17: 144–152 (in Russ.)]. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-17-144-152.
2. Краснова Ю.Н. Влияние табачного дыма на органы дыхания. *Сибирский медицинский журнал*. 2015; 137 (6): 11–16. [Krasnova Yu.N. Effect of tobacco smoke on the respiratory system. *Siberian Medical Journal*. 2015; 137 (6): 11–16 (in Russ.)].
3. Backman H., Hedman L., Jansson S., Lindberg A., Lundbäck B., Rönmark E. Prevalence trends in respiratory symptoms and asthma in relation to smoking – two cross-sectional studies ten years apart among adults in northern Sweden. *World Allergy Organ. J.* 2014; 7 (1): 1–7. DOI: 10.1186/1939-4551-7-1.
4. Polosa R., Russo C., Caponnetto P., Bertino G., Sarva M., Antic T., Mancuso S., Al-Delaimy W. Greater severity of new onset asthma in allergic subjects who smoke: a 10-year longitudinal study. *Respiratory Research*. 2011; 12 (1): 16. DOI: 10.1186/1465-9921-12-16.
5. Chalmers G.W., Macleod K.J., Little S.A., Thomson L.J., McSharry C.P., Thomson N.C. Influence of cigarette smoking on inhaled corticosteroid treatment in mild asthma. *Thorax*. 2002; 57 (3): 226–230. DOI: 10.1136/thorax.57.3.226.
6. Thomson N.C., Spears M. The influence of smoking on the treatment response in patients with asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 5 (1): 57–63. DOI: 10.1097/00130832-200502000-00011.
7. Boulet L.P., FitzGerald J.M., McIvor R.A., Zimmerman S., Chapman K.R. Influence of current or former smoking on asthma management and control. *Can. Respir. J.* 2008; 15 (5): 275–279. DOI: 10.1155/2008/725074.
8. Перельман Н.Л. Влияние табакокурения на связанное со здоровьем качество жизни у больных бронхиальной астмой. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2014; 53: 30–35. [Perelman N.L. Effects of tobacco smoking on health-related quality of life in patients with asthma. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2014; 53: 30–35 (in Russ.)].
9. Juusela M., Pallasaho P., Rönmark E., Sarna S., Sovijärvi A., Lundbäck B. Dose-dependent association of smoking and bronchial hyperresponsiveness. *Eur. Respir. J.* 2013; 42: 1503–1512. DOI: 10.1183/09031936.00073712.
10. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Влияние нейтрофильного компонента бронхиального воспаления на уровень контроля болезни и функцию внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; 61: 16–24. [Pirogov A.B., Perelman J.M., Prikhodko A.G., Zinov'ev S.V. Influence of the neutrophilic component of bronchial inflammation on the level of disease control and lung function in patients with asthma. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2016; 61: 16–24 (in Russ.)]. DOI: 10.12737/21434.
11. Пирогов А.Б., Колосов В.П., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Гассан Д.А., Мальцева Т.А. Особенности воспалительных паттернов бронхов и клинико-функциональная характеристика тяжелой неконтролируемой астмы у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Пульмонология*. 2016; 26 (6): 701–707. [Pirogov A.B., Kolosov V.P., Perelman J.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. *Russian Pulmonology*. 2016; 26 (6): 701–707 (in Russ.)]. DOI: 0.18093/086901892016266701707.
12. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2016). URL: <http://www.ginasthma.com>.
13. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011: 204. [Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka Publ., 2011: 204 (in Russ.)].
14. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18 (10): 1415–1422. DOI: 10.2174/092986711795328337.
15. Матвеева Л.А. Местная защита респираторного тракта у детей. Томск: Издательство Томского ун-та, 1993: 276. [Matveeva L.A. Local protection of the respiratory tract in children. Tomsk: Tomsk University Publ., 1993: 276 (in Russ.)].
16. Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. Гематологическая цито-химия; пер. с англ.; под ред. Н.С. Кисляк. М.:

- Медицина, 1983: 319. [Nauhoe F.G.J., Quaglino D. Hematologic cytochemistry. per. s angl; pod red. N.S. Kislyak. Moscow: Meditsina Publ., 1983 (in Russ.)].
17. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике в 2 т.; под ред. А.И. Карпищенко; 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012: 472. [Medical laboratory technologies: a guide on clinical laboratory diagnostics in 2 vol.; pod red. A.I. Karpishhenko; 3-e izd., peregab. i dop. Moscow: GEHOTAR-Media Publ., 2012: 472 (in Russ.)].
 18. Соодаева С.К., Климанов И.А. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии. Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2009; 1: 34–38. [Soodaeva S.K., Klimanov I.A. Disorders of oxidative metabolism in respiratory diseases and modern approaches to antioxidant therapy. *Atmosphere. Pulmonology and Allergology*. 2009; (1): 34–38 (in Russ.)].
 19. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. Пульмонология. 2012; 1: 5–10. [Soodaeva S.K. Free radical mechanisms of injury in respiratory disease. *Russian Pulmonology*. 2012; 1: 5–10 (in Russ.)]. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10.
 20. Jin Y.S., Park K.K., Park J.Y., Kim M.J., Lee W.L., im H.Y., Lee H. J., Park E.K. Effects of exercise induced oxidative stress and antioxidant supplementation on NF-kB activation in peripheral mononuclear cells. *Korean J. Sports Med*. 2000; 18 (2): 261–270.
 21. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами. *Иммунология*. 2000; 5: 11–17. [Vasil'eva G.I., Ivanova I.A., Tyukavkina S.Yu. Cooperative interaction of mono- and polynucleated phagocytes, mediated by mono- and neutrophilokines. *Immunology*. 2000; (5): 11–17 (in Russ.)].
 22. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling. *Cell. Mol. Immunol*. 2007; 4 (6): 419–429.
 23. Конищева А.Ю., Гервазиева В.Б., Лаврентьева Е.Е. Особенности структуры и функции респираторного эпителия при бронхиальной астме. Пульмонология. 2012; 5: 85–91. [Konishcheva A.Y., Gervazieva V.B., Lavrentyeva E.E. Changes in the structure and function of respiratory epithelium in bronchial asthma. *Russian Pulmonology*. 2012; 5: 85–91 (in Russ.)]. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-85-91.
 24. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры. Вестник Российской АМН. 2010; 1: 27–39. [Panasenko O.M., Sergienko V.I. Halogenated stress and its biomarkers. *Herald of RAMS*. 2010; 1: 27–39 (in Russ.)].
 25. Wood L.G., Baines K.I., 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. DOI: 10.1378/chest.11-1838.
 26. Pirogov A.B., Zinov'ev S.V., Perelman J.M., Prikhodko A.G., Kolosov V.P. Destructive-cytolytic activity of bronchial epithelium and its influence on the development of cold airway hyperresponsiveness in patients with asthma. *Respirology*. 2017; 22 (3): 172.
 27. Holgate S.T. Epithelium dysfunction in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2007; 120 (6): 1233–1244. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.10.025.

Вклад авторов

Пирогов А.Б. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Приходько А.Г. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального материала. Колосов В.П. – проверка критически важного интеллектуального материала, окончательное утверждение для публикации рукописи. Перельман Ю.М. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального материала.

Authors contribution

Pirogov A.B. – conception and design, analysis and interpretation of the data, drafting of the manuscript. Prikhodko A.G. – justification of the manuscript, critical revision of the article for important intellectual content. Kolosov V. – critical revision of the article for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Perelman Yu.M. – conception and design, critical revision of the article for important intellectual content.

Сведения об авторах

Пирогов Алексей Борисович, канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск. ORCID ID 0000-0001-5846-3276.

Authors information

Pirogov Aleksey B., PhD, Associate Professor, Senior Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Nonspecific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveschensk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0001-5846-3276.

Приходько Анна Григорьевна, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск. ORCID ID 0000-0003-2847-7380.

Колосов Виктор Павлович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск. ORCID ID 0000-0002-8854-4752.

Перельман Юлий Михайлович, д-р мед. наук, профессор, руководитель лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск. ORCID ID 0000-0002-9411-7474.

(✉) **Перельман Юлий Михайлович**, e-mail: jperelman@mail.ru.

Prikhodko Anna G., DM, Chief Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveschensk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0003-2847-7380.

Kolosov Victor P., DM, Professor, Director of the Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveschensk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0002-9411-7474.

Perelman Juliy M., DM, Professor, Head of the Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveschensk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0002-9411-7474.

(✉) **Perelman Juliy M.**, e-mail: jperelman@mail.ru.

Поступила в редакцию 28.04.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Received 28.04.2018
Accepted 11.06.2019