АНТИПЛАГИАТ
ОБНАРУЖЕНИЕ ЗАИМСТВОВАНИЙ

Отчет о проверке на заимствования №1

Автор: Котова Олеся Олеговна
Проверяющий: Клеутина Татьяна Александровна (tak051083@gmail.com / ID: 2)
Организация: Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания

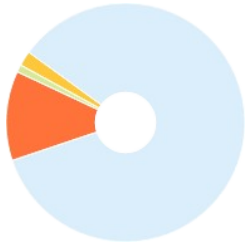
Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - http://cfpd.antiplagiat.ru

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 75
Начало загрузки: 11.10.2021 10:23:48
Длительность загрузки: 00:00:41
Имя исходного файла: 3Диссертация Котовой на плагиат.docx
Название документа: 3Диссертация Котовой на плагиат
Размер текста: 1 кБ
Тип документа: Кандидатская диссертация
Символов в тексте: 164547
Слов в тексте: 19367
Число предложений: 644

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
Начало проверки: 11.10.2021 10:24:30
Длительность проверки: 00:00:52
Комментарии: не указано
Поиск с учетом редактирования: да
Модули поиска: ИПС Адилет, Библиография, Сводная коллекция ЭБС, Интернет Плюс, Сводная коллекция РГБ, cfpd, Цитирование, Переводные заимствования (RuEn), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu), Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Переводные заимствования издательства Wiley (RuEn), eLIBRARY.RU, СПС ГАРАНТ, Медицина, Диссертации НББ, Перефразирования по eLIBRARY.RU, Перефразирования по Интернету, Патенты СССР, РФ, СНГ, Шаблонные фразы, Кольцо вузов, Издательство Wiley, Переводные заимствования



ЗАИМСТВОВАНИЯ	САМОЦИТИРОВАНИЯ	ЦИТИРОВАНИЯ	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ
12,31%	2,07%	1,22%	84,4%

Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
Самоцитирования — доля фрагментов текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа, по отношению к общему объему документа.
Цитирования — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТу цитаты; общеупотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.
Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.
Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.
Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.
Заимствования, самоцитирования, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.
Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в отчете	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Комментарии
[01]	2,07%	Шелудько, Елизавета Григорьевна Клинико-функциональные и генетические особенности сочетания бронхиальной астмы и синдрома обструктивного апноэ сна : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.25 Благовещенск 2019 http://dlib.rsl.ru	15 Окт 2019	Сводная коллекция РГБ	
[02]	1,89%	Гассан, Дина Анатольевна Клинико-генетические особенности тяжелой бронхиальной астмы : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.25 Благовещенск 2019 http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2019	Сводная коллекция РГБ	
[03]	0,39%	Клинико-функциональные и генетические особенности сочетания бронхиальной астмы и синдрома обструктивного апноэ сна https://cfpd.ru	27 Сен 2021	Интернет Плюс	
[04]	0,41%	Клинико-генетические особенности тяжелой бронхиальной астмы http://cfpd.ru	30 Окт 2019	Интернет Плюс	
[05]	1,86%	СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ФОРМИРОВАНИЯ ГИПО- И ГИПЕРОСМОЛЯРНОЙ РЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ. http://elibrary.ru	10 Янв 2015	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
[06]	0,1%	скачать полный текст выпуска http://cfpd.amursu.ru	28 Ноя 2017	Интернет Плюс	
[07]	0,4%	РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА TRPM8 В ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ С ХОЛОДОВОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ. http://elibrary.ru	15 Фев 2018	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
[08]	0,24%	https://esu.citis.ru/dissertation/2IJR000KIoE615JHb22cLb00 https://esu.citis.ru	20 Мар 2018	Интернет Плюс	
[09]	0,27%	ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА КАТИОННЫХ КАНАЛОВ *TRPM8* С ХОЛОДОВОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ. http://elibrary.ru	10 Янв 2019	Перефразирования по eLIBRARY.RU	
		РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА TRPM8 В ФОРМИРОВАНИИ			

[10]	1,07%	ФЕНОТИПА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ С ХОЛОДОВОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ. http://elibrary.ru	15 Фев 2018	eLIBRARY.RU
[11]	0,11%	ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БЕКЛОМЕТАЗОНА ДИПРОПИОНАТА/ФОРМОТЕРОЛА ФУМАРАТА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ. http://elibrary.ru	11 Фев 2019	Перефразирования по eLIBRARY.RU
[12]	0,8%	ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА КАТИОННЫХ КАНАЛОВ *TRPM8* С ХОЛОДОВОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ. http://elibrary.ru	10 Янв 2019	eLIBRARY.RU
[13]	0%	dental-press.ru https://dental-press.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс
[14]	0,48%	http://cfpd.amursu.ru/attachments/article/5/mono_7.pdf http://cfpd.amursu.ru	06 Авг 2017	Интернет Плюс
[15]	0,09%	XXIV НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС ПО БОЛЕЗНЯМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ. http://elibrary.ru	14 Сен 2015	eLIBRARY.RU
[16]	0,07%	КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА ИНГАЛЯЦИЮ ГИПЕРТОНИЧЕСКОГО РАСТВОРА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ. http://elibrary.ru	04 Авг 2016	eLIBRARY.RU
[17]	0,9%	не указано	раньше 2011	Шаблонные фразы
[18]	0,36%	Приходько, Анна Григорьевна диссертация ... доктора медицинских наук : 14.00.43 Благовещенск 2006 http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ
[19]	0,02%	Скачать PDF Текст https://naukaru.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс
[20]	0,07%	Боговин, Лариса Викторовна Мотивация к лечению и кооперативность в достижении контроля бронхиальной астмы : диссертация ... доктора медицинских наук : 14.01.04 Владивосток 2015 http://dlib.rsl.ru	12 Окт 2017	Сводная коллекция РГБ
[21]	0,24%	dental-press.ru https://dental-press.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс
[22]	0%	ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БЕКЛОМЕТАЗОНА ДИПРОПИОНАТА/ФОРМОТЕРОЛА ФУМАРАТА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ С ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТЬЮ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ. http://elibrary.ru	11 Фев 2019	eLIBRARY.RU
[23]	0,2%	Автореферат диссертации Прозоровой Александры Владимировны/Prozorova.doc http://amursma.ru	01 Янв 2017	Перефразирования по Интернету
[24]	0%	Сборник "САМ - 2016" http://cfpd.amursu.ru	29 Янв 2017	Перефразирования по Интернету
[25]	0,25%	ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *TRPA1* НА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ. http://elibrary.ru	15 Янв 2019	Перефразирования по eLIBRARY.RU
[26]	0,15%	Способ прогнозирования риска формирования холодовой гиперреактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой. Патент РФ 2489086 http://findpatent.ru	24 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ
[27]	0%	Скачать PDF Текст https://naukaru.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс
[28]	0%	КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОЧЕТАННОГО ТЕЧЕНИЯ СИНДРОМА ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ СНА И БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ. http://elibrary.ru	25 Янв 2019	eLIBRARY.RU
[29]	0,24%	Материалы XI Всероссийского съезда неврологов и IV конгресса Национальной ассоциации по борьбе с инсультом. http://elibrary.ru	10 Фев 2020	eLIBRARY.RU
[30]	0,56%	Автореферат диссертации Боговин Л.В./Bogovin.doc http://amursma.ru	05 Янв 2017	Перефразирования по Интернету
[31]	0,2%	ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *TRPA1* НА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ. http://elibrary.ru	15 Янв 2019	eLIBRARY.RU
[32]	0,08%	Пунин, Денис Александрович Легочные объемы, артериальная ригидность и эффективность коронарного кровотока у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в условиях бронхолитической терапии : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.25... http://dlib.rsl.ru	16 Июн 2021	Сводная коллекция РГБ
[33]	0%	dental-press.ru https://dental-press.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс
		Трушина, Елена Юрьевна Клинико-иммунологическая диагностика типов воспаления дыхательных путей в оптимизации терапии у		

[34]	0,01%	больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.03.09 Пенза ... http://dlib.rsl.ru	16 Июн 2021	Сводная коллекция РГБ
[35]	0%	Клинико-функциональные особенности бронхолегочной системы и нейровегетативной регуляции у больных бронхиальной астмой во время беременности и их влияние на потомство http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина
[36]	0,1%	Приходько, Ольга Борисовна диссертация ... доктора медицинских наук : 14.01.25 Благовещенск 2010 http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2010	Сводная коллекция РГБ
[37]	0%	Субботин, Сергей Викторович Возможности объемной капнографии в оценке легочной функции у пациентов с бронхиальной астмой : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.04 Рязань 2018 http://dlib.rsl.ru	22 Фев 2019	Сводная коллекция РГБ
[38]	0,2%	Полтавская, Евгения Григорьевна Клинический полиморфизм шизофрении и побочные эффекты антипсихотической терапии: оценка участия полиморфных вариантов генов PIP5K2A, SGK1 и DPP6 : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.06 : 03.02.07 р. Томск ... http://dlib.rsl.ru	25 Окт 2019	Сводная коллекция РГБ
[39]	0%	Вестник новых медицинских технологий. Том XVII, № 2, 2010 http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС
[40]	0%	Цикунова, Юлия Сергеевна Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика синдрома белково-энергетической недостаточности у лиц молодого возраста с дисплазией соединительной ткани : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.04 Омск 2019 http://dlib.rsl.ru	25 Окт 2019	Сводная коллекция РГБ
[41]	0%	Особенности суточного ритма артериального давления, функционального состояния эндотелия и кислородтранспортной функции крови у пациентов с артериальной гипертензией I-II степени в сочетании с бронхиальной астмой и возможности коррекции выявленных наруше... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ
[42]	0,32%	не указано	раньше 2011	Цитирование
[43]	0,35%	Государственное учреждение Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья Российской https://present5.com	11 Окт 2021	Интернет Плюс
[44]	0%	Результаты клинического исследования ноотропной и антиоксидантной активности левзеи сафлоровидной – тема научной статьи по фундаментальной медицине читайте бесплатно текст научно-исследовательской работы в электронной библиотеке КиберЛенинка https://cyberleninka.ru	26 Фев 2021	Интернет Плюс
[45]	0%	Состояние и взаимосвязи показателей системного и местного адаптивного иммунитета при полипозном риносинусите http://emll.ru	20 Дек 2016	Медицина
[46]	0,04%	Диссертация на тему «Клинико-генетические особенности бронхиальной астмы у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей», скачать бесплатно автореферат по специальности ВАК РФ 14.01.04 - Внутренние болезни https://dissercat.com	08 Фев 2021	Интернет Плюс
[47]	0%	КЛИНИКО-ПСИХОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОНТРАСТНЫХ НАВЯЗЧИВОСТЕЙ И НАВЯЗЧИВОСТЕЙ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ УГРОЗЫ ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКОМ РАЗВИТИИ ЛИЧНОСТИ И РАССТРОЙСТВАХ ШИЗОФРЕ http://pdf.knigi-x.ru	12 Мар 2021	Интернет Плюс
[48]	0%	Хелашвили Ирина Гильмеяровна ХРОНИЧЕСКИЙ ЭНДОМЕТРИТ: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ РЕЦЕПТИВНОСТИ ЭНДОМЕТРИЯ 14.01.01 – Акушерство и гинекология 14.03.02 – http://diss.seluk.ru	29 Окт 2020	Интернет Плюс
[49]	0,01%	ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ КАТИОННЫХ КАНАЛОВ TRPM8 КАК ФАКТОР ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ХОЛОДОВОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ОБСТРУКТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ. http://elibrary.ru	29 Авг 2014	Перефразирования по eLIBRARY.RU
[50]	0%	Внутрисердечная гемодинамика, легочный кровоток и функция внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких в различные периоды беременности http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина
[51]	0%	Неинвазивная вентиляция легких в комплексе интенсивной терапии интраабдоминальной гипертензии у больных, оперированных на органах гепатопанкреатодуоденальной зоны http://emll.ru	20 Дек 2016	Медицина
[52]	0,06%	Способ прогнозирования риска формирования осмотической гиперреактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой https://edrid.ru	19 Фев 2021	Интернет Плюс

[53]	0,1%	Особенности течения бронхиальной астмы в период обострения в зависимости от генетического статуса пациентов http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ
[54]	0%	Диссертация на тему «ОДНОПОРТОВАЯ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКАЯ ХОЛЕЦИСТЭКТОМИЯ: ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ», скачать бесплатно автореферат по специальности ВАК РФ 14.01.17 - Хирургия https://dissercat.com	07 Дек 2020	Интернет Плюс
[55]	0%	Ховалкин, Руслан Геннадьевич Выбор метода эндоваскулярного лечения окклюзионно-стенотических поражений артерий бедренно-подколенного сегмента : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.26 Москва 2016 http://dlib.rsl.ru	27 Дек 2019	Сводная коллекция РГБ
[56]	0%	Эффективность лечения гиперпластических процессов эндометрия у женщин репродуктивного возраста с ожирением http://emll.ru	08 Июл 2017	Медицина
[57]	0%	Функции внешнего дыхания у тренированных и нетренированных людей	14 Июн 2018	Кольцо вузов
[58]	0%	Квалификационная работа, Буслович	19 Июн 2018	Кольцо вузов
[59]	0%	104227 http://biblioclub.ru	13 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС
[60]	0%	Оценка клинико-иммунологической эффективности физиотерапевтических методов при бронхиальной астме у детей http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ
[61]	0%	Рахматуллин, Айрат Разифович Вегетативно-висцеральные нарушения у больных рассеянным склерозом : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.11 Уфа 2017 http://dlib.rsl.ru	27 Дек 2019	Сводная коллекция РГБ
[62]	0%	Осипов Евгений Михайлович АЛИЕВ ДЕНИС ФАХРИДДИНОВИЧ.doc	19 Июн 2017	Кольцо вузов
[63]	0%	АЛИЕВ ДЕНИС ФАХРИДДИНОВИЧ	27 Июл 2017	Кольцо вузов
[64]	0%	Туратова КГМИПК 2017	18 Сен 2018	Кольцо вузов
[65]	0%	Клинико-патогенетическая характеристика и факторы прогноза множественной миеломы http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина
[66]	0,03%	132866 http://biblioclub.ru	15 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС
[67]	0%	Овсянников, Николай Викторович диссертация ... доктора медицинских наук : 14.01.25 Москва 2012 http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ
[68]	0%	Скорикова, Виктория Геннадьевна Клинико-биохимические предикторы эффективности тромболитической терапии при ишемическом инсульте : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.11 Пермь 2018 http://dlib.rsl.ru	25 Окт 2019	Сводная коллекция РГБ
[69]	0%	Мужское бесплодие: обоснование диагностических и лечебных подходов при наличии метаболических нарушений http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ
[70]	0%	Оценка гиперреактивности бронхов у больных бронхиальной астмой http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ
[71]	0%	Влияние табакокурения на состояние органов дыхания у лиц молодого возраста с дисплазией соединительной ткани - автореферат диссертации по медицине скачать бесплатно на тему 'Внутренние болезни', специальность ВАК РФ 14.00.05 http://medical-diss.com	12 Фев 2019	Интернет Плюс
[72]	0%	Физические факторы в коррекции гипоксических нарушений у больных хроническим обструктивным бронхитом и бронхиальной астмой http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина
[73]	0%	Т. 25, № 4 http://emll.ru	28 Апр 2017	Медицина
[74]	0%	Диссертация на тему «Диагностика изменений воздухонаполненности легких у больных бронхиальной астмой», скачать бесплатно автореферат по специальности ВАК РФ 14.01.04 - Внутренние болезни https://dissercat.com	11 Дек 2020	Интернет Плюс
[75]	0,03%	Дьяченко, Николай Александрович Особенности экспрессии микроРНК у пациентов с бронхиальной астмой, ХОБЛ и сочетанием бронхиальной астмы и ХОБЛ : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.25; 14.03.10 Санкт-Петербург 2020 http://dlib.rsl.ru	16 Июн 2021	Сводная коллекция РГБ
[76]	0%	Показатели внешнего дыхания у практически здоровых студентов – тема научной статьи по клинической медицине читайте бесплатно текст научно-исследовательской работы в электронной библиотеке КиберЛенинка https://cyberleninka.ru	01 Окт 2021	Интернет Плюс
		Расстройства микроциркуляции и методы их коррекции у		

[77]	0%	пациентов с артериальной гипертензией II степени при внегоспитальной пневмонии http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ
[78]	0%	Компьютерная томография в диагностике обструктивных болезней легких http://emll.ru	20 Янв 2020	Медицина
[79]	0%	Качество жизни больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки у лиц трудоспособного возраста по результатам длительного диспансерного наблюдения | Контент-платформа Pandia.ru https://pandia.ru	01 Июн 2020	Интернет Плюс
[80]	0,05%	ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА <italic>TRPV4</italic> НА ФОРМИРОВАНИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ. http://elibrary.ru	21 Янв 2016	Перефразирования по eLIBRARY.RU
[81]	0,04%	List of genetic diseases with associated genes and alleles - Eupedia https://eupedia.com	11 Окт 2021	Интернет Плюс
[82]	0%	List of genetic diseases with associated genes and alleles - Eupedia https://eupedia.com	01 Окт 2021	Интернет Плюс
[83]	0,19%	PARASITISM INFLUENCE UPON THE PLASMATIC HAEMOSTASIS INDEXES IN CATTLE http://journals.usamvcluj.ro	07 Янв 2018	Переводные заимствования (RuEn)
[84]	0%	ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ - PDF Скачать Бесплатно https://docplayer.ru	25 Дек 2019	Интернет Плюс
[85]	0%	ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ - PDF Скачать Бесплатно https://docplayer.ru	15 Янв 2021	Интернет Плюс
[86]	0%	Т. 2 http://emll.ru	08 Июл 2017	Медицина
[87]	0%	Гигиеническая оценка производства и использования молочных продуктов, обогащенных микронутриентами, в регионально-ориентированной системе профилактики алиментарно-зависимых заболеваний - автореферат диссертации по медицине скачать бесплатно на тему 'Гиг... http://medical-diss.com	07 Фев 2019	Интернет Плюс
[88]	0%	Асирян Е.Г. Монография/ВВЕДЕНИЕ-МОНОГР.doc	22 Мар 2018	Кольцо вузов
[89]	0,06%	ПСИХОСОМАТИЧЕСКИЕ СООТНОШЕНИЯ И ВНУТРЕННЯЯ КАРТИНА БОЛЕЗНИ У РЕВМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ http://pdf.knigi-x.ru	01 Окт 2021	Интернет Плюс
[90]	0,11%	Вестник новых медицинских технологий. Том XIV, № 4, 2007 http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС
[91]	0,06%	Возрастная клинико-иммунологическая характеристика клещевого энцефалита у детей » Энцефалит.ру https://encephalitis.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс
[92]	0,03%	Диссертация на тему «Качество жизни больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки у лиц трудоспособного возраста по результатам длительного диспансерного наблюдения», скачать бесплатно автореферат по специальности ВАК РФ 14.01.04 - Внутре... https://dissercat.com	09 Дек 2020	Интернет Плюс
[93]	0%	Диплом Круговых	25 Мая 2017	Кольцо вузов
[94]	0%	44 (4) Апрель-май PDF https://docplayer.ru	28 Фев 2019	Интернет Плюс
[95]	0%	Особенности лиганд-рецепторных взаимоотношений в популяции лимфоцитов крови и их прогностическая роль у курящих и некурящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ
[96]	0%	Перечень подведомственных организаций Министерства науки и высшего образования Российской Федерации https://minobrnauki.gov.ru	19 Янв 2021	Интернет Плюс
[97]	0,15%	Бронхиальная астма - симптомы, лечение, профилактика | портал АзМост https://az-most.ru	06 Фев 2019	Интернет Плюс
[98]	0%	Состояние костно-мышечной системы у мужчин с хронической обструктивной болезнью легких http://dep.nlb.by	04 Июл 2017	Диссертации НББ
[99]	0%	Способ прогнозирования развития полипозного риносинусита у больных бронхиальной астмой. Патент РФ 2482794 http://findpatent.ru	24 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ
[100]	0%	Контроль течения бронхиальной астмы - клинические, психосоматические соотношения и расстройства личности http://emll.ru	20 Янв 2020	Медицина
[101]	0%	РЕЦЕНЗИЯ НА ДИССЕРТАЦИЮ БАКШАЕВА ИЛЬИ НИКОЛАЕВИЧА «СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ПАЦИЕНТАМ С БОЛЕЗНЯМИ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ В ПЕНИТЕНЦИАРНЫХ УЧРЕЖДЕНИЯХ» НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ НАУК ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 14.02.03 - «ОБЩЕСТ... http://elibrary.ru	01 Фев 2021	eLIBRARY.RU

[102]	0%	rsl01003029946.txt http://dlib.rsl.ru	15 Мая 2018	Сводная коллекция РГБ	
[103]	0%	Практическая пульмонология : руководство для врачей http://studentlibrary.ru	20 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	
[104]	0%	Мукоцилиарный клиренс и бронхиальная проходимость при стандартной базисной терапии у больных бронхиальной астмой - автореферат диссертации по медицине скачать бесплатно на тему 'Пульмонология', специальность ВАК РФ 14.00.43 http://medical-diss.com	04 Апр 2021	Интернет Плюс	
[105]	0%	Иммунодиагностика и иммунотерапия аллергии, индуцированной структурно разными видами аллергенов http://dep.nlb.by	20 Дек 2016	Диссертации НББ	
[106]	0%	Способ хронотерапии 2-агонистами больных диссеминированным туберкулезом легких. Патент РФ 2275904 http://findpatent.ru	24 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	
[107]	0%	Способ хронотерапии 2-агонистами больных диссеминированным туберкулезом легких | Банк патентов http://bankpatentov.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	
[108]	0%	Клинико-иммунологические особенности атопического дерматита у детей и эффективность патогенетической терапии http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина	
[109]	0,08%	№ 1 http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина	
[110]	0,04%	Бронхиальная астма в свете современных рекомендаций: по материалам конгресса "Человек и лекарство" и III Саммита пульмонологов. http://elibrary.ru	11 Фев 2020	eLIBRARY.RU	
[111]	0%	Вестник новых медицинских технологий. Том XIX, № 2, 2012 http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	
[112]	0%	Аллергенспецифическая иммунотерапия атопической бронхиальной астмы и аллергического ринита пероральными низкодозовыми аллерговакцинами http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	
[113]	0%	МАРКЕРЫ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ И ФОРМИРОВАНИЯ АРТЕРИАЛЬНОЙ РИГИДНОСТИ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ http://libed.ru	13 Окт 2020	Интернет Плюс	
[114]	0%	Вестник новых медицинских технологий. Том XVIII, № 2, 2011 http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	
[115]	0%	http://www.nsmu.ru/science/docs/Manuilov%20I.V..pdf http://nsmu.ru	16 Июн 2019	Интернет Плюс	
[116]	0%	Фвд при бронхиальной астме показатели у детей https://rasayanavl.ru	29 Мар 2021	Интернет Плюс	
[117]	0%	Шаверская Э.Ш. Клинико-патогенетическая характеристика течения ГЭРБ у больных ХОБЛ. Автореферат дисс. к.м.н., 14.01.04 - внутренние болезни. ИГМА, Ижевск, 2013. https://gastroscan.ru	08 Фев 2021	Интернет Плюс	
[118]	0%	Сосудистая реактивность и функциональные особенности кардиореспираторной системы у больных хронической обструктивной болезнью легких - автореферат диссертации по медицине скачать бесплатно на тему 'Пульмонология', специальность ВАК РФ 14.00.43 http://medical-diss.com	07 Мар 2019	Интернет Плюс	
[119]	0%	не указано http://janhist.ru	05 Янв 2017	Перефразирования по Интернету	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[120]	0%	Статистический анализ в медицине http://biometrica.tomsk.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[121]	0%	Статистический анализ в медицине http://biometrica.tomsk.ru	26 Янв 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[122]	0%	https://www.neurology.ru/sites/default/files/assets/documents/2019/09/nuzhnyy-evgeniy-petrovich-dissertaciya-09-09-19.pdf https://neurology.ru	04 Дек 2020	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[123]	0%	Окоменко, Татьяна Ивановна диссертация ... доктора медицинских наук : 14.00.05 Великий Новгород 2009 http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[124]	0%	Гуськова, Екатерина Владимировна Факторы, определяющие безопасность двойной антитромбоцитарной терапии после плановых чрескожных коронарных вмешательств : диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.05, 14.01.13 Москва 2016 http://dlib.rsl.ru	27 Дек 2019	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[125]	0%	Роль низко- и среднепенетрантных генов в развитии спорадического рака молочной железы http://dep.nlb.by	06 Дек 2018	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[126]	0%	Оценка риска повторных насильственных общественно опасных деяний у мужчин, страдающих параноидной шизофренией, в контексте реализации принудительных мер безопасности и лечения (клинико-психопатологическое исследование) http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
		Метаболический синдром и беременность, осложненная гипертензивными расстройствами: структурно-функциональное			

[127]	0%	состояние сердечно-сосудистой системы, клинико-биохимические особенности, течение беременности, родов, послеродового периода http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[128]	0%	Прогнозирование непосредственных и отдаленных результатов хирургического лечения при опухолях единственной почки http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[129]	0%	ЯКУТСКИЙ МедИцИнСКИЙ 2(62) `2018 YAKUT MEDICAL JOURNAL. ISSN (print) ISSN (online) Выходит 4 раза в год - PDF Free Download https://docplayer.ru	01 Июн 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[130]	0%	http://nphys.ru/files/dissertation/klimenko/dissertaciya_klimenko_a_v.pdf http://nphys.ru	26 Янв 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[131]	0%	Бронхиальная астма клинический случай https://rasayanavl.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[132]	0%	Поликлиническая терапия (специалитет) https://book.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[133]	0%	Дистонические гиперкинезы: патофизиологическая характеристика, клиника, диагностика, лечение http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[134]	0%	Гормональный статус в перименструальном периоде у больных дисменореей http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[135]	0%	Клинико-патогенетические аспекты хронического бронхолегочного воспаления у детей и подростков из районов радиоэкологического риска http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[136]	0%	Дифференцированный подход к диагностике и хирургическому лечению первичного гиперпаратиреоза http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[137]	0%	Обеспеченность организма витамином D у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с сохранённой фракцией выброса и разработка методов коррекции его дефицита/недостаточности http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[138]	0%	Диагностика и комплексное лечение плоского лишая слизистой оболочки полости рта http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[139]	0%	https://www.paracels.net/files/docs/allergo_meetings/Fenotipy_bronch_astmy_2015.pdf https://paracels.net	27 Мая 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[140]	0%	https://www.paracels.net/files/docs/allergo_meetings/Fenotipy_bronch_astmy_2015.pdf https://paracels.net	01 Окт 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[141]	0%	Фтизиатрия http://studentlibrary.ru	20 Янв 2020	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[142]	0%	Колоскова, Надежда Николаевна диссертация ... кандидата медицинских наук : 14.01.05 Москва 2011 http://dlib.rsl.ru	раньше 2011	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[143]	0%	Вавилова_НН__Физическая культура_2016.docx	06 Мая 2016	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[144]	0%	Ведение пациентов с простатической интраэпителиальной неоплазией высокой степени, выявленной при хирургических вмешательствах на предстательной железе http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[145]	0%	Приказ Министерства здравоохранения РФ от 30 апреля 2013 г. N 281 "Об утверждении научных платформ медицинской науки" http://ivo.garant.ru	22 Фев 2019	СПС ГАРАНТ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[146]	0%	Обоснование выбора оптимальной тактики ингаляционной терапии у больных бронхиальной астмой в условиях стационара - автореферат диссертации по медицине скачать бесплатно на тему 'Пульмонология', специальность ВАК РФ 14.00.43 http://medical-diss.com	14 Дек 2020	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[147]	0%	ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ Козловский	01 Фев 2019	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[148]	0%	Профессиональные заболевания органов дыхания http://studentlibrary.ru	20 Дек 2016	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[149]	0%	Профессиональные заболевания органов дыхания http://studentlibrary.ru	26 Янв 2018	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[150]	0%	211033 http://biblioclub.ru	18 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[151]	0%	Нарушения гемодинамики при бронхиальной астме https://rasayanavl.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[152]	0%	Нарушения гемодинамики при бронхиальной астме https://rasayanavl.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[153]	0%	Вестник новых медицинских технологий. Том XVII, № 4, 2010 http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
		Волкова, Наталия Александровна Формирование атопической патологии и клинико-экономическая эффективность антагонистов			

[154]	0%	лейкотриеновых рецепторов в терапии аллергических болезней у детей раннего и дошкольного возраста : диссертация ... кандидата медицински... http://dlib.rsl.ru	27 Дек 2019	Сводная коллекция РГБ	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[155]	0%	VIII Российский национальный конгресс "Человек и лекарство", 2-6 апр. 2001 г., Москва http://emll.ru	28 Апр 2017	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[156]	0%	XV Российский национальный конгресс "Человек и лекарство", 14-18 апреля 2008 г. http://emll.ru	28 Апр 2017	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[157]	0%	Аллергология и иммунология http://studentlibrary.ru	26 Янв 2018	Медицина	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[158]	0%	Исследование измененной реактивности дыхательных путей https://medbe.ru	27 Сен 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[159]	0%	ЧеренковаАА_ВКР_34.03.01_О_2021	07 Июн 2021	Кольцо вузов	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[160]	0%	Хроническая обструктивная болезнь легких: клинические рекомендации, протоколы лечения » Энцикломедия https://bz.medvestnik.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[161]	0%	Клинико-патогенетическое значение нарушенИй реологических свойств крови при Псориатическом Артрите и их участие в формировании кардиоваскулярного риска 14.01.22 – ревматология Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук ... http://dissers.ru	11 Окт 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[162]	0%	Нарушения ритма сердца у больных бронхиальной астмой, пути профилактики и способы их коррекции - автореферат диссертации по медицине скачать бесплатно на тему 'Внутренние болезни', специальность ВАК РФ 14.00.05 http://medical-diss.com	11 Окт 2021	Интернет Плюс	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ФИЗИОЛОГИИ И ПАТОЛОГИИ ДЫХАНИЯ»

На правах рукописи

Котова Олеся Олеговна

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

3.1.29 – пульмонология (медицинские науки)

Диссертация на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук,

профессор Перельман Юлий Михайлович

Благовещенск - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ…… 4

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ КАНАЛОВ С ТРАНЗИТОРНЫМ РЕЦЕПТОРНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ ВАНИЛЛОИДНОГО ПОДСЕМЕЙСТВА (TRPV) В РАЗВИТИИ ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)……. 14

1.1. Осмотическая гиперреактивность дыхательных путей как одна из фенотипических особенностей бронхиальной астмы…… 15

1.2. Роль рецепторов TRPV в развитии гиперреактивности дыхательных путей на осмотические стимулы…… 20

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ…… 31

2.1. Основные клинико-функциональные методы исследования…… 32

2.1.1. Общеклинические методы исследования…… 32

2.1.2. Исследование вентиляционной функции лёгких…… 34

2.1.3. Исследование осмотической гиперреактивности дыхательных путей…… 35

2.2. Генетические методы исследования…… 37

2.2.1. Генотипирование полиморфизмов генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4*…… 37

2.2.2. Определение уровней экспрессии генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* в респираторном эпителии…… 41

2.3. Статистический анализ результатов исследования…….. 43

2.4. Клиническая характеристика обследованных лиц…….. 45

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ВАНИЛЛОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА РАЗВИТИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ

ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ…….. 52

3.1. Общая характеристика исследованных полиморфизмов…… 52

3.2. Взаимосвязь полиморфизмов *TRPV* с гиперреактивностью дыхательных путей на гипоосмотический стимул…… 64

3.3. Взаимосвязь полиморфизмов *TRPV* с гиперреактивностью дыхательных путей на гиперосмотические стимулы…… 67

3.4. Клинико-функциональные особенности бронхиальной астмы у больных с генетически детерминированной гиперреактивностью дыхательных путей……

ГЛАВА 4. ВЗАИМОСВЯЗЬ ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ БРОНХОВ С УРОВНЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *TRPV* РЕЦЕПТОРОВ НА РЕСПИРАТОРНОМ ЭПИТЕЛИИ……. 80

ГЛАВА 5. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ГИПООСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ И ПОТЕРИ КОНТРОЛЯ НАД БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ…… 85

5.1. Способы прогнозирования осмотической гиперреактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой при воздействии воздуха с высоким уровнем относительной влажности……. 85

5.2. Прогнозирование риска неконтролируемого течения бронхиальной астмы в период повышенной относительной влажности атмосферного воздуха…… 91

ЗАКЛЮЧЕНИЕ……. 96

ВЫВОДЫ……... 105

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ…….. 107

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ…….. 109

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…… 111

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Бронхиальная астма (БА) представляет собой повсеместно распространенную респираторную патологию. В структуре хронических заболеваний дыхательных путей она занимает второе место после хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). Около 260 млн. человек в мире страдает БА, среди них ежегодно погибает более 460 тыс. больных [88]. Несмотря на многочисленные исследования, проведенные в области изучения причин развития, течения, диагностики и лечения БА, данное заболевание остается серьезной глобальной проблемой здравоохранения, приводящей к значительному социальному и экономическому ущербу [82,89].

На сегодняшний день установлено, что БА является гетерогенным заболеванием, в развитии которого принимают участие различные патологические механизмы, однако, во всех случаях оно ассоциируется с гиперреактивностью дыхательных путей (ГРДП) на прямые и непрямые стимулы. ГРДП представляет собой характерное функциональное нарушение при БА, при котором воздействие стимула, безопасного для здорового человека, вызывает у больного сужение дыхательных путей, что приводит к вариабельной бронхиальной обструкции и эпизодическому появлению симптомов [22,89]. На данный момент механизмы развития ГРДП установлены лишь частично.

Естественные стимулы, провоцирующие бронхоспазм, повсеместно встречаются в окружающей среде, будь то аллергены, изменяющиеся параметры атмосферы (температура, уровень влажности) или физическая нагрузка. На сегодняшний день несомненным фактом является влияние климатогеографических условий на течение БА. Установлено, что изменения таких факторов, как температура [55] и влажность [103,114], могут приводить к сезонной потере контроля над БА и обострениям заболевания. В связи с этим

изучение воздействия непрямых триггеров на дыхательные пути является особенно актуальным с точки зрения своей клинической значимости.

Изменение концентрации паров воды во вдыхаемом воздухе [5,73], а также физическая нагрузка, во время которой происходит дегидратация слизистой оболочки бронхов [57,118,120], в свою очередь, приводят к изменению осмотического давления на внутренней поверхности бронхов, что в конечном итоге провоцирует развитие бронхоспазма.

Ранее проведенные исследования осмотической ГРДП на непрямые стимулы - физическую нагрузку, ингаляции с 4,5% солевым раствором и дистиллированной водой, показали, что у значительной части больных БА положительные реакции дыхательных путей на различные бронхопровокационные пробы не сочетаются, либо сочетаются лишь частично [2,15]. Указанное обстоятельство может свидетельствовать о наличии специфических механизмов формирования данных реакций.

На основании многочисленных работ, проведенных в области изучения осморецепции, можно предположить, что изменение реактивности дыхательных путей на осмотические стимулы обусловлено нарушениями на уровне ваниллоидных каналов с транзиторным рецепторным потенциалом TRPV [111,186].

На сегодняшний момент известно 6 представителей подсемейства TRPV, которые могут активироваться различными экзо- и эндогенными физическими или химическими факторами [147]. Основными их функциями в организме являются термо-, осмо- и механорецепция. Как терморецепторы, различные представители TRPV каналов имеют отличающиеся друг от друга температурные пороги активации: TRPV1 – при 43°C и выше [41], TRPV2 – свыше 52°C [147], а TRPV3 и TRPV4 активируются при температурах свыше 34°C [207] и 27°C [158], соответственно. Возможность осмотической активации зафиксирована для TRPV1, TRPV2 и TRPV4, причем TRPV1 отвечает за восприятие повышенного осмотического давления [155], а TRPV2 и TRPV4 представляют собой рецепторы, реагирующие на снижение осмолярности [147].

Учитывая данные последних лет, стало известно, что отдельные представители TRPV рецепторов имеют свои преимущественные места экспрессии. Так, представляющие интерес TRPV осморецепторы располагаются в различных структурах респираторного тракта. Например, TRPV1 экспрессированы на чувствительных нервных окончаниях блуждающего нерва [230], формирующих разветвленную сеть в эпителиальной выстилке, на клетках бронхиального эпителия [81,178], а также данные рецепторы обнаруживаются на тучных клетках, макрофагах [225] и CD4+ лимфоцитах [197,202]. TRPV4 экпрессирован, в основном, на эпителии трахеи, бронхов и в нижележащих отделах респираторного тракта, в том числе в альвеолярных перегородках [85,104,214], на гладкой мускулатуре дыхательных путей [86] и легочных сосудов [192]. Имеются данные об экспрессии TRPV4 на макрофагах [221] и тучных клетках [138]. В отличие от TRPV1 и TRPV4, широкая экспрессия TRPV2 обнаружена в клетках иммунной защиты – макрофагах [165], тучных клетках, нейтрофильных гранулоцитах, NK-клетках, а также Т- и В-лимфоцитах [201]. Столь широкая экспрессия различными клетками данных рецепторов представляет интерес в плане установления их роли в условиях патологии, в частности, в возникновении осмотической ГРДП у больных БА.

В последнее время накоплены сведения о важной роли генетических детерминант в развитии БА, в том числе и отдельных ее симптомов. В исследовании L.P. McGarvey et al. [105] установлена взаимосвязь тяжелой, плохо поддающейся лечению БА с гиперэкспрессией TRPV1 на бронхиальном эпителии. Кроме этого, G. Cantero-Recasens et al. [133] обнаружили влияние однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) rs8065080 (Ile585Val) гена *TRPV1* на риск возникновения свистящих хрипов у детей с БА. Носительство варианта Val585 ассоциировалось со снижением функциональной активности соответствующего рецепторного канала TRPV1, в связи с чем, у таких пациентов риск появления симптомов БА в виде свистящих хрипов был ниже, по сравнению с носителями Ile585Ile. Другое исследование демонстрирует взаимосвязь шести генетических полиморфизмов *TRPV1* с различными видами кашля у лиц без

обструктивной патологии дыхательных путей [212]. Вместе с этим, обнаружено, что некоторые ОНП гена *TRPV4* вовлечены в развитие ХОБЛ [39], а также способствуют увеличению экспрессии одноименного канального белка, тем самым способствуя аллергической сенсибилизации и развитию БА [54].

В связи с этим целесообразно обратить внимание на роль структурных и функциональных изменений *TRPV* в патогенезе осмотической ГРДП и формировании сопутствующих клинико-функциональных особенностей БА.

Степень разработанности темы исследования

В ходе подготовки темы диссертационного исследования проработано более 200 источников отечественной и зарубежной литературы. На основании уже имеющихся в мировой науке данных сформировано представление о месте осмотической ГРДП в фенотипе БА. В рамках темы диссертационного исследования изучены работы по экспериментам с TRP рецепторами, а также возможном влиянии генетических ОНП данных рецепторов на развитие ГРДП и бронхообструктивных заболеваний в целом. На сегодняшний день другие исследования о комплексном вкладе TRPV рецепторов в формирование осмотической ГРДП отсутствуют.

Цель исследования

Изучить влияние ОНП генов *TRPV* рецепторов на осмотическую ГРДП у больных БА, а также разработать способы прогнозирования клинического течения БА и формирования ГРДП в ответ на воздействие осмотических стимулов с учетом найденных генетических предикторов.

Задачи исследования

1. Установить взаимосвязь ОНП генов *TRPV1* (rs222747, rs224534,

rs8065080), *TRPV2* (rs3813769, rs1129235, rs7217735) и *TRPV4* (rs6606743, rs7971845) с формированием ГРДП на гипо- и гиперосмотические стимулы.

2. Оценить влияние ОНП генов *TRPV1* (rs222747, rs224534, rs8065080), *TRPV2* (rs3813769, rs1129235, rs7217735) и *TRPV4* (rs6606743, rs7971845) на клинико-функциональные особенности течения БА.

3. Исследовать уровни экспрессии *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* в клетках респираторного эпителия у больных БА с осмотической ГРДП.

4. Разработать способы прогнозирования формирования осмотической ГРДП, а также степени контроля БА с использованием генетических и клинико-функциональных предикторов.

Научная новизна

Впервые описаны особенности клинико-функциональных проявлений и течения БА у лиц с генетически детерминированной осмотической ГРДП. Пациенты с бронхоспазмом в ответ на воздействие гипо- и гиперосмотических аэрозольных стимулов имеют более тяжелое течение заболевания и демонстрируют тенденцию к более частой потере контроля над БА.

Впервые получены комплексные данные о влиянии ОНП генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* на формирование осмотической ГРДП. Обнаружено, что СС генотип rs1129235 *TRPV2* повышает шанс развития ГРДП на гипоосмотический стимул в 3,54 раза (p=0,002). В то же время генотип GG по ОНП rs3813769 и наличие аллеля G по ОНП rs7217735 гена *TRPV2* в гомо- или гетерозиготном состоянии обладают протективным действием в отношении формирования гипоосмотической ГРДП (p=0,001 и p=0,013, соответственно). Установлено, что носительство АА генотипа rs6606743 гена *TRPV4* снижает вероятность возникновения ГРДП в ответ на вдыхание влажного воздуха (ОШ 0,43 95%ДИ (0,19; 0,94), p=0,027).

Впервые продемонстрирована роль ОНП rs7217735 гена *TRPV2* в снижении контроля над БА. Пациенты с АА генотипом по данному ОНП обладают в 2,46

раза более высоким риском потери контроля над БА, чем лица с GG и AG генотипами.

Получены новые данные о взаимосвязи уровней экспрессии *TRPV* в клетках респираторного эпителия с реакцией бронхов на гипо- и гиперосмотические стимулы. Повышение уровня экспрессии *TRPV1* и *TRPV2* в бронхиальном эпителии у больных БА связано с развитием ГРДП на гипо- и гиперосмотические стимулы.

Впервые разработан способ прогнозирования потери контроля БА в случае воздействия на дыхательные пути влажного атмосферного воздуха на основании комплексного подхода с учетом клинико-функциональных (тяжесть БА, выраженность гипоосмотической ГРДП) и генетических параметров (ОНП rs7217735 *TRPV2*).

Разработаны математические модели прогнозирования риска возникновения осмотической ГРДП у больных БА в ответ на воздействие повышенного уровня относительной влажности вдыхаемого воздуха с учетом генетических (rs1129235 или rs7217735 гена *TRPV2*) и клинико-функциональных параметров (тяжесть БА, степень бронходилатационного эффекта после ингаляции сальбутамола, индекс курения).

Теоретическая значимость

Определена роль ОНП генов *TRPV* рецепторов в рамках проявления ГРДП на различные осмотические стимулы у больных БА. Установлено, что у лиц с бронхоконстрикторной реакцией на гипо- и гиперосмотические аэрозоли более высокая экспрессии *TRPV1* и *TRPV2* на уровне матричной РНК (м-РНК) в бронхиальном эпителии по сравнению с пациентами без ГРДП.

На основании полученных результатов можно рассматривать рецепторы TRPV в качестве мишеней для разработки таргетной терапии пациентов с БА, имеющих гиперчувствительность бронхов к повышенной влажности вдыхаемого воздуха.

Практическая значимость

Выявлены особенности клинических проявлений и течения БА у лиц с генетически детерминированной осмотической ГРДП.

Разработан способ прогнозирования гипоосмотической ГРДП с учетом функциональных и молекулярно-генетических предикторов у больных БА, а также способ прогнозирования потери контроля над БА у пациентов с генетически детерминированной гипоосмотической ГРДП, которые обеспечивают возможность в реальной клинической практике проводить коррекцию базисной терапии у таких пациентов в сезоны с повышенной влажностью воздуха.

Методология и методы исследования

Работа выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Предметом исследования явилось описание осмотической ГРДП у больных БА с учетом вклада в формирование данного процесса генетических особенностей некоторых TRPV каналов. Объектом исследования послужили 300 больных БА легкой и средней степени тяжести. Методы исследования, используемые в научной работе, включают в себя общеклинические, функциональные, инструментальные, генетические и статистического анализа. Все пациенты давали письменное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом №114-Д/1 от 22.11.2016, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД. Данная исследовательская работа выполнена в рамках Государственного задания для ДНЦ ФПД по теме 060 «Молекулярные механизмы патологических реакций респираторного тракта на климатические факторы у больных хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания» (номер

государственной регистрации: АААА-А19-119012290114-5), гранта РНФ №14-25-00019 по теме: «Молекулярно-клеточные и генетические механизмы осмотической реактивности дыхательных путей человека» (номер государственной регистрации: АААА-А16-116062710039-8).

Основные положения, выносимые на защиту

1. В основе осмотической ГРДП лежат генетические детерминанты. ОНП rs1129235, rs3813769, rs7217735 гена *TRPV2* и rs6606743 гена *TRPV4* непосредственно ассоциированы с ГРДП на гипоосмотический стимул.

2. Генетически детерминированная осмотическая ГРДП оказывает влияние на контроль БА и особенности её клинико-функциональных проявлений.

3. Измененный уровень экспрессии генов *TRPV1* и *TRPV2* в бронхиальном эпителии способен провоцировать возникновение ГРДП на гипо- и гиперосмотические стимулы.

4. Развитие гипоосмотической ГРДП у больных БА возможно прогнозировать с использованием разработанной математической модели, включающей в себя клинико-функциональные (тяжесть БА, изменение $ОФВ_1$ после ингаляции сальбутамола в %) и генетические (ОНП rs1129235 гена *TRPV2*) параметры.

5. Предикторами потери контроля БА при воздействии на дыхательные пути атмосферного воздуха повышенной влажности могут служить тяжесть БА, степень гипоосмотической ГРДП, выраженная в снижении $ОФВ_1$ в ответ на бронхопровокационную пробу с ИДВ, а также наличие генотипа АА по ОНП rs7217735 *TRPV2*. Развитие неконтролируемого течения БА можно прогнозировать, используя способ, разработанный на основании комплексного подхода с учетом данных клинико-функциональных и генетических параметров.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность результатов научной работы подтверждается достаточным количеством наблюдений в сравниваемых группах, а также применяемыми современными методами и подходами для расчета данных. Для статистической обработки использовались прикладные программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc. 2011), REST 2009 V2.0.13 (Qiagen GmbH, 2009), а также web-программы RefFinder [145] и SNPStats (Institut Català d'Oncologia, 2018). Анализ данных производился с проверкой нормальности распределения значений переменных и, в соответствии с этим, применялись параметрические и непараметрические методы вариационной статистики. Различия считались достоверными при $p<0,05$.

Публикация результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, 4 из которых представлены в виде тезисов в зарубежных журналах 1 квартиля, индексированных в международной реферативной базе Web of Science, 3 – в отечественных из списка ведущих рецензируемых журналов, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней и 1 – по материалам международной конференции "Системный анализ в медицине" (Благовещенск, 2021).

Личный вклад соискателя

Автор диссертационной работы самостоятельно провела поиск и анализ литературных данных по теме, сформулировала цели и задачи научной работы, участвовала в отборе и обследовании пациентов для включения в исследование, сборе и обработке материала больных для генетических исследований. Соискатель единолично проводила генотипирование и анализ экспрессии, освоила и лично использовала методики по проведению бронхопровокационных проб, а также составила базу данных и выполнила статистические расчеты, результаты которых

отражены в выводах и оформлены в виде публикаций и докладов.

Апробация работы

Материалы диссертационного исследования доложены на VII Съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока с международным участием (Благовещенск, 2017), научной конференции «Молодые ученые – науке» (Благовещенск, 2017), XV Международной научной конференции "Системный анализ в медицине" (Благовещенск, 2021), Международном конгрессе Европейского респираторного общества (Милан, 2017), Международной конференции Американского торакального общества (Вашингтон, 2017; Сан-Диего, 2021).

Объем и структура работы

Диссертация представлена на 137 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования и три главы собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Текст диссертации содержит 23 таблицы и 39 рисунков, а также формулы для расчета данных. Список использованной литературы включает 235 источников литературы отечественных и зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ КАНАЛОВ С ТРАНЗИТОРНЫМ РЕЦЕПТОРНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ ВАНИЛЛОИДНОГО ПОДСЕМЕЙСТВА (TRPV) В РАЗВИТИИ ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

БА является повсеместно распространенной респираторной патологией, поражающей детей и взрослых [82,45] и занимающей второе место в структуре хронических заболеваний дыхательных путей после ХОБЛ [88]. Широкий диапазон встречаемости БА в различных странах во многом обусловлен этнической принадлежностью, социально-экономическим статусом, а также экологической и эпидемиологической обстановкой в конкретном регионе [228]. По результатам последних исследований по всему миру БА страдает около 262 95%ДИ (224-309) миллионов лиц обоих полов. Ежегодно по причине данного заболевания умирает более 460 тысяч человек. Согласно данным за 2019 год 21,6 95%ДИ (17,1-27,0) миллионов лет жизни, скорректированных на нетрудоспособность (англ. *DALY, сокр. от «Disability-adjusted life year»*), потеряно в связи с заболеваемостью БА, что составило 20,8% (17,5-24,7) от общего количества DALY всех хронических респираторных заболеваний [88].

В Российской Федерации распространенность хронических заболеваний дыхательных путей составляет 5,27%, при этом БА встречается у 2,45% населения страны [88]. По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации (от 05.07.2018) [6] на 2017 год в стране ежегодно регистрируется более 120 тысяч новых случаев заболевания.

Несмотря на успехи в области изучения этиологии, патогенеза, а также усовершенствование методов диагностики и лечения, БА представляет собой глобальную проблему здравоохранения, приводящую к значительному социальному и экономическому ущербу [50,61,82,170].

1.1. Осмотическая гиперреактивность дыхательных путей как одна из фенотипических особенностей бронхиальной астмы

БА представляет собой многофакторное заболевание. В основе ее возникновения лежат как внутренние (генетика [60, 94,180,227], пол [40,182], недоношенность при рождении [67], избыточная масса тела [164]), так и внешние триггеры (факторы окружающей среды, аллергены, аэрополлютанты [134], курение, стрессы, профессиональные сенсибилизаторы, инфекционные агенты [87,117,152,168], микробиом [156,199], характер питания [63,198]). При этом развитие патологии не определяется какой-то одной конкретной причиной, а является следствием совокупности сложных взаимодействий различных этиопатогенетических механизмов [42,89,161,231].

В зависимости от условий возникновения и особенностей течения БА существуют различные варианты кластеризации данного заболевания. Разделение БА по фенотипам или эндотипам диктуется современными взглядами персонализированной медицины, использующей принципы индивидуального подхода к профилактике и лечению [27,137,170,181]. Во многом это объясняется тем, что пациенты по-разному отвечают на терапию в зависимости от наличия у них того или иного проявления данного заболевания [124]. Например, зачастую больные тяжёлой БА, которую выделяют в отдельный фенотип, имеют резистентные симптомы, несмотря на высокоинтенсивное лечение [50,58,99,112]. На сегодняшний день основными критериями для классификации форм БА являются особенности клинического проявления и патофизиологических механизмов развития заболевания [119, 159,161]. В мировой литературе встречаются разнообразные варианты группировки данных особенностей. Кластеризация строится в основном на различных комбинациях таких параметров, как возраст дебюта заболевания, проявления аллергических и атопических изменений, тяжесть заболевания, показатели функции лёгких, наличие ожирения, соотношение клеточных элементов и других маркеров воспаления в дыхательных путях (эозинофилы, нейтрофилы, уровни цитокинов), а

также генетические предикторы [115,123]. Несмотря на столь сложную структуру, в Глобальной инициативе по бронхиальной астме [89] и Федеральных клинических рекомендациях МЗ РФ года по бронхиальной астме от 2021 года [26] можно встретить следующую основную общепринятую классификацию БА: аллергическая БА, неаллергическая БА, БА с поздним дебютом, БА с фиксированной обструкцией дыхательных путей, БА у больных с ожирением и трудная для лечения БА (в которую включена, в том числе, и тяжелая БА).

В целом развитие БА характеризуется сложными нейроиммунными реакциями, обусловленными взаимодействием внешних и внутренних факторов [42,113]. Однако, несмотря на гетерогенность природы ее возникновения, данное заболевание во всех случаях ассоциируется как с хроническим воспалением, так и с ГРДП [144]. Указанные особенности можно определить даже при нормальных показателях функции легких и отсутствии клинических симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, чувство заложенности в груди и кашель [188]. Однако ГРДП и воспаление способны уменьшаться или вовсе нивелироваться при соответствующем адекватном лечении [89]. Несмотря на то, что ГРДП считают обязательным признаком БА, специфичным назвать его сложно. Некоторые исследования демонстрируют возникновение данного явления при других респираторных патологиях, например, среди больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) [9,122,187], хроническим бронхитом [125] и идиопатическим легочным фиброзом [191], а также у здоровых лиц и спортсменов во время интенсивных физических нагрузок при воздействии различных внешних физических факторов (температура и влажность вдыхаемого воздуха) [21,57,79,84,140].

ГРДП является функциональным нарушением, представляющим собой чрезмерную констрикторную реакцию бронхов после воздействия различных экзогенных стимулов [22]. Возникновение вариабельной бронхиальной обструкции приводит к появлению соответствующих клинических симптомов, которые способны проходить самостоятельно или купироваться под воздействием специфических лекарственных средств [89]. В последние десятилетия ученые все

больше внимания уделяют явлению ГРДП в ответ на воздействие физических параметров атмосферы, таких как температура и влажность [18,96,102,196]. Исследователи изучают особенности температурного профиля и уровня относительной влажности воздуха в конкретных регионах земного шара и демонстрируют влияние погодно-климатических условий на течение БА [12,32,127,194]. В частности, изменение указанных параметров как в сторону увеличения [46,47,114], так и в сторону снижения [55,98,103,], способно провоцировать появление симптомов, обострение заболевания или ухудшение контроля над БА [17,51,126].

Ранее проведенные исследования показали, что ГРДП на гипо- и гиперосмотические стимулы является достаточно распространенным явлением при БА и способна оказывать влияние на течение болезни [1,14,15,24,57]. Это подчеркивает актуальность и необходимость понимания этиопатогенетических механизмов данного феномена с целью определения новых подходов к тактике диагностики, профилактики и лечения. Для изучения последствий воздействия некоторых физических факторов на дыхательные пути применяются специальные стандартизированные методики – непрямые бронхопровокационные тесты. Для анализа осмотической ГРДП используют бронхопровокационные пробы с ингаляцией гипертонического (4,5% NaCl) солевого раствора (ИГР), дистиллированной воды (ИДВ), инсуффляцией пудры маннитола, гипервентиляцией сухим воздухом или дозированной физической нагрузкой (ДФН) [23,28,36,74].

Патогенез ГРДП является достаточно сложным и до конца неизученным. Считается, что данный процесс обусловлен нейроэндокринными и иммунными механизмами [4,22,116,121,153]. Уменьшение влажности вдыхаемого воздуха, происходящее в естественных условиях окружающей среды или связанное с гипервентиляцией (в условиях патологии или при интенсивной физической нагрузке), приводит к дегидратации слизистого слоя дыхательных путей и, соответственно, повышению осмолярности на поверхности клеток респираторного тракта [5,28,118,120, 206]. В связи с этим молекулы воды

устремляются из клетки на поверхность цитоплазматической мембраны, к месту избыточной концентрации различных ионов. Данный процесс приводит к уменьшению объема самих клеток. В случае повышения относительной влажности вдыхаемого воздуха происходит обратное действие, на поверхности дыхательных путей уменьшается осмолярность и, в связи с возникающим осмотическим градиентом, вода диффундирует внутрь клетки, увеличивая ее объем [5,206]. Известно, что последующие эффекты осмотического воздействия реализуются посредством сигнального пути с участием митоген-активируемых протеинкиназ (MAPK) [235]. Помимо этого, изменение осмотического давления провоцирует активацию целого каскада адаптационных реакций со стороны клеток при участии известного фактора транскрипции NFAT5, вызывающего изменение активности различных осмопротективных генов с целью восстановления водно-солевого баланса [154]. В случае нарушения адаптационных механизмов при воздействии осмотического стимула, данные изменения неизбежно приводят к деформации не только цитоплазматической мембраны, но и внутренних клеточных структур, а также запускают ряд реакций осмотического и механического стресса [83,183], провоцирующих продукцию и выброс медиаторов воспаления, что в свою очередь влечет к сокращению гладкомышечных клеток стенки бронхиального дерева [78].

Во многом благодаря экспериментальным моделям БА у животных удалось изучить некоторые патофизиологические особенности возникновения и проявления ГРДП, а также течения БА в целом, хотя эти подходы имеют некоторые особенности [49,146]. Считается, что ГРДП неразрывно связана с уже имеющимися воспалительными изменениями. Большую роль в патогенезе формирования осмотической ГРДП отводят респираторному эпителию, иммунным клеткам (эозинофилам, нейтрофилам, лимфоцитам, тучным клеткам), а также гладкомышечным и клеткам сенсорных и эффекторных нейронов, являющихся структурными элементами стенки бронхов [20,25,43,129,166,174]. Установлено, что тучные клетки чувствительны к изменению осмолярности и в данной ситуации выступают в качестве источников биологически-активных

веществ – гистамина, простагландинов (в первую очередь простагландина Д2) и лейкотриенов, способных непосредственно связываться со специфическими рецепторами на гладкомышечных клетках и провоцировать сужение дыхательных путей [163,179]. В норме клетки бронхиального эпителия продуцируют активные медиаторы, в частности, простагландин Е2 и оксид азота, вызывающие расслабление гладкой мускулатуры и способные тем самым оказывать протективное действие в отношении сужения дыхательных путей [44,72]. При этом выработка простагландина Е2 частично стимулируется лейкотриенами [131]. При гибели эпителиальных клеток в результате осмотического стресса происходит выброс различных активных соединений. Кроме этого, нарушение целостности эпителиального слоя приводит к ослаблению его барьерной функции [90], в результате чего усиливается действие не только осмотического раздражителя, но и активирующее действие медиаторов воспаления по отношению к нервным окончаниям, пронизывающим бронхиальные стенки [160] и гладкомышечным клеткам дыхательных путей, что приводит к увеличению эффекта бронхоконстрикции [128]. Экспериментальные исследования, проведенные на изолированных дыхательных путях человека, показали, что при индукции интерлейкином-13 (ИЛ-13) и интерлейкином-4 (ИЛ-4) развивается ГРДП, не купирующаяся глюкокортикоидами, но эффективно подавляющаяся дупилумабом (рекомбинантные человеческие антитела (IgG4), блокирующие передачу сигналов ИЛ-4 и ИЛ-13). В данном случае бронхоконстрикторный эффект осуществлялся благодаря индукции секреции данными цитокинами гистамина и лейкотриена D4 [100].

Накопленные данные о механизмах воздействия осмотических стимулов на клетки не раскрывают полной картины развития ГРДП. На сегодняшний день остаются открытыми вопросы о том, каким образом осуществляется осморецепторная функция клеток, а также чем определяются уровень чувствительности к изменению осмолярности и адаптационные возможности в ответ на осмотический стресс. Понимание этого даст возможность раскрыть патофизиологические основы осмотической ГРДП. Ответы на эти вопросы

позволят понять, почему у одних пациентов с БА возникает бронхоспазм на изменение влажности воздуха, а у других нет, или почему у одних больных развивается ГРДП в ответ только на гипоосмотический, а у других только на гиперосмотический стимул, или почему у одних и тех же пациентов с БА встречается вариабельность осмотической бронхообструкции. И, самое главное, раскрытие механизмов осмотической ГРДП даст толчок в разработке новых таргетных лечебных препаратов, имеющих конкретную точку приложения в респираторном тракте.

1.2. Роль рецепторов TRPV в развитии гиперреактивности дыхательных путей на осмотические стимулы

В настоящее время в области изучения осморецепции большое внимание уделяется каналам с транзиторным рецепторным потенциалом ваниллоидного подсемейства (TRPV). Ранее эта группа рецепторов считалась восприимчивой к температурным стимулам, однако, позднее с помощью нокдауна генов у лабораторных животных, был определен целый спектр раздражителей, в том числе и осмотических, вызывающих их активацию.

TRPV подсемейство включает 6 катионных каналов, расположенных в цитоплазматической мембране многих клеток человека и животных, которые имеют в своей структуре схожую тетрамерную организацию белков – шесть трансмембранных доменов и внутриклеточные N- (от трех до пяти анкириновых повторов) и С- терминальные концы [136,215]. Первые четыре представителя TRPV1-4 демонстрируют низкую селективность в отношении катионов, в то время как наиболее селективными по отношению к ионам кальция являются TRPV5 и TRPV6 [136,147]. Данная особенность последних, вероятнее всего, связана с их вовлеченностью в процессы поддержания уровня кальция в крови и кальциевой реабсорбции в почках и кишечнике. Также в последнее время изучается роль TRPV5 и TRPV6 в плаценте и придатках яичек [162]. В отношении функции этих каналов в дыхательных путях данных практически нет.

Одними из первых были открыты рецепторы TRPV1, и на сегодняшний день они являются наиболее изученными. Данные каналы способны активироваться различными соединениями, в том числе экзогенными (капсаицин) и эндогенными (лейкотриены, каннабиноиды, метаболиты арахидоновой кислоты) медиаторами [184], кислой pH, физическими факторами (например, растяжением), а также температурой выше 42°C [41,64,150]. Для TRPV2 установлен порог активации примерно 52°C, подобные температуры оказывают повреждающее действие на клетки [147]. Эти каналы на сегодняшний день являются наименее изученными. Также известно, что TRPV3 и TRPV4 являются чувствительными к умеренным температурам – в диапазоне около 34-38°C и 27-44°C, соответственно [48,158,207].

В качестве сенсоров осмотического давления наибольший интерес представляют три представителя рецепторов TRPV – TRPV1, TRPV2 и TRPV4. Экспериментальные модели с участием лабораторных животных продемонстрировали возможность активации каналов TRPV1 гипертоническим стимулом. При этом чувствительность рецепторов к повышенному осмотическому давлению усиливалась при одновременном воздействии температуры, считающейся физиологической и соответствующей порогу активации каналов (выше 36°C). Таким образом, прослеживалась синергичная ответная реакция в отношении увеличения кальциевого инфлюкса при одновременном воздействии гипертонического стимула и температуры на TRPV1. Вместе с этим, в экспериментах с созданием условий гипоосмолярности данные каналы не демонстрировали увеличение активности [155].

В результате исследований было обнаружено, что TRPV4 и TRPV2, вероятнее всего, являются рецепторами, отвечающими за восприятие пониженного осмотического давления [147]. Помимо непосредственной активации в условиях гипоосмолярности, для каналов TRPV4 установлен опосредованный путь активации через первичное воздействие гипоосмотического стимула на фосфолипазу А2 с последующим образованием активного метаболита арахидоновой кислоты, способного напрямую воздействовать на рецепторы

TRPV4. Данная особенность дополнительно демонстрирует осуществление осмочувствительной функции за счет механорецепции, обусловленной увеличением объема и растяжением клетки в гипотонических условиях среды [48,158]. Для TRPV4 также характерно отсутствие чувствительности при воздействии гиперосмотических стимулов [53]. Существуют доказательства того, что TRPV2 также способны активироваться в условиях снижения осмолярности. В экспериментах с использованием гладкомышечных клеток аорты мышей, экспрессирующих рецепторы TRPV2, было обнаружено набухание миоцитов и растяжение их цитоплазматической мембраны при воздействии гипоосмолярного раствора. Данные изменения приводили к увеличению концентрации ионов кальция внутри клеток, что свидетельствовало об активации каналов TRPV2. Соответствующие результаты получены и в результате исследований, проведенных на клетках яичников китайского хомячка (CHO), где TRPV2 продемонстрировал способность к осморецепции путем восприимчивости к механическим воздействиям на клетки в ответ на гипоосмолярность и растяжение клеток [147,183].

Во многом рецепторы TRPV представляют особый интерес в связи со своей полимодальностью и способностью экспрессироваться на многих клетках в организме человека [64,216]. В последние десятилетия активно изучается функция данных каналов в условиях разнообразных патологических состояний. Не стали исключением и исследования о роли TRPV в развитии как хронических [56,65,93, 200], так и острых [220,173], вызванных вирусами, заболеваний респираторного тракта. Наибольшее внимание уделяется рецепторам TRPV1, TRPV2 и TRPV4 в рамках обструктивной патологии дыхательной системы [64]. Последние два также рассматриваются в качестве дисфункциональных каналов при идиопатическом легочном фиброзе [104,92].

Известно, что рецепторы TRPV широко экспрессированы в различных клетках дыхательных путей [64,216]. TRPV1 в большом количестве обнаруживается на афферентных немиелинизированных нервных окончаниях С-типа волокон, расположенных интраэпителиально [230]. Также каналы выявлены

в клетках респираторного эпителия [81,178], гладкой мускулатуры бронхов [69,176], эндотелии сосудов [71] и иммунных клетках (фибробластах [107], тучных клетках, макрофагах [225], CD4+ лимфоцитах [197,202]). TRPV4 экспрессируется на эпителиальных клетках всех отделов дыхательных путей, включая альвеолярные перегородки [85,104,214], а также миоциты [86], эндотелий легочных сосудов [192] и фибробласты [141]. Вместе с этим, данные каналы имеются в макрофагах [221] и тучных клетках [138]. Рецепторы TRPV2 в основном локализуются в иммунных клетках респираторной системы – макрофагах [165], тучных клетках, нейтрофилах, Т- и В-лимфоцитах, NK-клетках [201].

Считается, что активация TRPV1 каналов, расположенных преимущественно в сенсорных нейронах, способствует развитию нейрогенного воспаления в дыхательных путях. То есть увеличение концентрации внутриклеточного кальция провоцирует возбуждение нейронов, вследствие чего происходит высвобождение нейропептидов – тахикининов (в частности, субстанции Р и нейрокинина А) и пептида, связанного с геном кальцитонина (CGRP). Данные медиаторы оказывают влияние на эффекторные клетки респираторного тракта – иммунные клетки, клетки слизистых желез и миоцитов сосудов, а также холинергические нейроны. В результате развивается сужение просвета дыхательных путей за счет отека слизистой оболочки и бронхоконстрикции [101,130,153,167]. Еще одной интересной особенностью данных каналов является совместная экспрессия с TRPA1 на бронхопульмональных чувствительных нервах и их потенцирующее действие в отношении развития нейрогенных эффектов при одновременной активации, что может приводить к усилению воспалительной и бронхоконстрикторной реакции [108].

Немаловажная роль принадлежит и TRPV1, расположенным в неневральных клетках респираторного тракта. Некоторые исследования демонстрируют взаимосвязь активации TRPV1 с секрецией различных провоспалительных цитокинов иммунными клетками и эпителиоцитами бронхов, экспрессирующими

данные рецепторы [219]. Помимо этого, установлен вклад TRPV1 в развитие аллергического типа воспаления за счет CD4+ клеток. Этот механизм реализуется через известные сигнальные пути MAPK, NF-kB и NFAT, с участием процессов фосфорилирования некоторых сигнальных молекул и выделения ряда цитокинов Th2 и Th17 [202]. Также в работе C. Schiffers et al. продемонстрирована ключевая роль TRPV1 каналов в реакциях респираторного эпителия на воздействие протеазных аллергенов за счет взаимодействий с другими рецепторами PAR2 и P2YR2, приводя к высвобождению интерлейкина-13 и последующей активации Th2-типа ответа [203]. В другом исследовании было обнаружено, что типичные аэрополлютанты, такие как мелкие твердые частицы (PM2.5) и формальдегид, способны провоцировать развитие ГРДП [134] и утяжеление аллергической БА в моделях на мышах, а также обладают синергичным действием посредством активации сигнальных путей с участием TRPV1 [142]. Блокирование TRPV1, особенно вместе с TRPA1, уменьшало окислительный стресс, воспаление, ГРДП и повреждение легких. Данные эффекты, вероятнее всего, осуществлялись посредством взаимодействий TLR4/NF-κB и NLRP3/каспаза-1, ответственных за развитие воспалительных реакций [218].

Ученые уделяют особое внимание рецепторам TRPV1 при исследовании такого симптома, как кашель [95,189,190,193]. В лабораторных экспериментах на морских свинках была установлена значимая связь специфической активации каналов TRPV1, экспрессированных в С-волокнах трахеи, с развитием кашлевого рефлекса [38]. При использовании селективного блокатора данных рецепторов эффект нивелировался [169]. Кроме того, обнаружена ассоциация up-регуляции кашлевых рефлексов у людей с гиперэкспрессией TRPV1, а также сенситизация данных рецепторов к агонисту капсаицину у пациентов с хроническим кашлем [209,211].

Что касается роли TRPV1 непосредственно в развитии ГРДП, в литературе встречаются противоречивые результаты. Однако большинство из исследований подтверждают влияние каналов TRPV1. Существуют данные о том, что ингибирование функции данных рецепторов у овальбумин-сенситизированных

морских свинок приводит к снижению ГРДП. Вместе с этим установлен вклад TRPV1 в развитие гистамин-индуцированного бронхоспазма у животных [62,209].

Интересным является тот факт, что эффекты TRPV1 могут модулироваться в условиях патологии за счет повышения чувствительности данных каналов к внешним раздражителям в результате сенситизации эндогенными компонентами (низкие значения pH, АТФ, протеазы, продукты липоксигеназы, простаноиды, брадикинин). Частично такая реакция опосредуется через внутриклеточные сигнальные пути с участием других трансмембранных рецепторов GPCR [217]. Также установлено, что вдыхание сигаретного дыма может провоцировать выделение АТФ, участвующего в реакциях бронхоконстрикции, при этом данный эффект нивелируется при блокировании TRPV1 и TRPV4 рецепторов [175]. Кроме этого, TRPV1 вместе с TRPA1 при воздействии сигаретного дыма опосредуют повреждение клеток бронхиального и альвеолярного эпителия благодаря модуляции окислительного стресса, воспаления и повреждения митохондрий [177].

На сегодняшний день нет точных данных о возможном рефлексогенном влиянии TRPV4, однако, есть признаки того, что в нейрогенном воспалении данные каналы все же способны участвовать. Активация рецепторов TRPV4 в нервных окончаниях дыхательных путей осмотическими и химическими стимулами аналогично активации TRPV1 провоцирует выделение таких нейромедиаторов, как субстанция P и CGRP [110,211].

Еще одним ключевым фактором роли TRPV4 в патологии респираторной системы является способность данных каналов при активации гипоосмолярным стимулом или специфическим агонистом провоцировать сокращение гладкой мускулатуры изолированного бронха или трахеи вне зависимости от наличия иннервации. Это подтверждается тем, что при инактивации рецепторов TRPV4 селективным антагонистом происходит полное подавление данных реакций [209]. Механизм бронхоконстрикторного действия, скорее всего, опосредован выделением молекул АТФ, провоцирующих секрецию тучными клетками лейкотриенов, способных вызывать бронхоконстрикцию [139,157,175,210]. J. Duan

et al. обнаружили, что одновременное воздействие высокой относительной влажности и формальдегида может усиливать активацию TRPV4 в легких, и вследствие этого активировать p-38 активированные протеин-киназы (p-38 MAPK), способствуя развитию воспаления и гиперсекреции слизи [80]. В другом исследовании в модели БА у мышей также наблюдалось притупление ГРДП и снижение нейтрофилии и эозинофилии в дыхательных путях при блокировании рецепторов TRPV4 [213]. Кроме того, обнаружено, что в ответ на воспалительные изменения активация TRPV4 каналов через PAR1 рецепторы способна вызывать модуляцию эндотелиального барьера в сосудах и ремоделированию межклеточных соединений, вызывая отек [66,204]. Также изучается роль TRPV4 в развитии эндотелиальной дисфункции и, как следствие, легочной гипертензии [171].

В литературе встречаются противоречивые данные о вкладе TRPV4 в развитие БА. Например, S. Palaniyandi не установили различий между нокаутными по TRPV4 мышами и контрольными в модели БА после овальбумин-сенсибилизации [222]. Другое исследование, наоборот, описывает возможность развития неатопической БА путем активации TRPV4. Ученые демонстрируют вероятную роль взаимодействий PAR-2–TRPV4–ATP–cysLT для заболевания. В данном эксперименте описывается не классический иммуноглобулин E – независимый путь возникновения бронхоспазма, при котором активация TRPV4 приводит к высвобождению цистеинил лейкотриенов (cysLT) из тучных клеток, провоцируя сокращение гладкомышечных клеток дыхательных путей [157].

Существуют исследования, отражающие вероятный вклад TRPV4 в развитие ремоделирования дыхательных путей. Активация TRPV4 опосредует регуляцию пролиферации гладкомышечных клеток бронхов через калиевые каналы KCa3.1. При их блокировании или нокдауне значительно снижалось ремоделирование, воспаление и ГРДП [232]. Установлено, что фибробласты легких мышей с БА обладали повышенной активностью TRPV4 и имели больший потенциал дифференцировки по сравнению с контрольными. При нокауте TRPV4 у мышей наблюдалось снижение дифференцировки фибробластов. TRPV4-опосредованные

реакции модулируют два пути: усиление отложение матрикса и замедление деградации матрикса, что в конечном итоге приводит к фиброзированию и ремоделированию дыхательных путей [141]. Еще одним немаловажным исследованием по установлению роли TRPV4 в бронхолегочной системе является работа J.T. Morgan et al. Ученые установили, что активация или ингибирование рецепторов TRPV4 в эмбриональных эксплантах легких мышей приводили, соответственно, к гипер- или гипопластическим изменениям в отношении разветвления дыхательных путей, дифференцировке гладкомышечных клеток, росту легких и плотности капиллярной сети сосудов. Тем самым они определили данные каналы, как способные регулировать морфогенез основных тканей легкого [149].

Интересным является наблюдение, что наночастицы диоксида кремния (SiNP), широко применяемого в косметической и пищевой промышленности, способны активировать рецепторы TRPV1 в бронхиальном эпителии, но ингибировать TRPV4. Вместе с этим, отмечается что при активации TRPV4 происходит увеличение частоты биения ресничек эпителиальных клеток дыхательных путей [132], а воздействие SiNP способны угнетать данный эффект [185].

Возможные эффекты TRPV2 каналов в дыхательных путях на сегодняшний мало изучены. По всей видимости, ключевая роль заключается в развитии воспалительного ответа, учитывая преимущественную экспрессию данных каналов в иммунных клетках. Существуют исследования, демонстрирующие его онкогенную роль, связанную с осложнениями лейкемии в виде инфильтрации лейкозных бластных клеток в паренхиматозную и интерстициальную ткань легких человека. Установлено, что рецепторы TRPV2 сверхэкспрессированы в данных клетках по сравнению нормальными мононуклеарами. Блокирование каналов TRPV2 вызывало подавление экспрессии CD38, поверхностного маркера, принимающего участие не только в развитии лейкемии, но и легочном воспалении [75].

Существует большая вероятность того, что TRPV2 способны оказывать

влияние на состояние дыхательных путей за счет регуляции дегрануляции тучных клеток. Доказано, что механические стимулы, а также нагревание и воздействие лазерного света с длиной волны 640 нм провоцируют активацию TRPV2, вызывая увеличение концентрации ионов кальция в клетке и способствуя высвобождению активных соединений из тучных клеток [138].

В работе M. Li et al. [77] была проанализирована экспрессия TRPA1, TRPV1 и TRPV2 на уровне белка и м-РНК в легочной ткани мышей, в условиях овальбумин-индуцированной БА после воздействия тримеллитового ангидрида, типичного низкомолекулярного аэрополлютанта в окружающей среде. Ученые наблюдали не только выраженные воспалительные изменения, но и повышенную экспрессию указанных рецепторов именно в рамках указанной модели по сравнению с контрольными образцами. Похожие результаты были получены в других исследованиях на модели БА у овальбумин-сенситизированных мышах [76,233].

TRPV2 также рассматривается в патологии ХОБЛ. Установлено, что сигаретный дым способен подавлять экспрессию данных каналов в альвеолярных макрофагах у мышей, тем самым вызывая угнетение их фагоцитарной функции. В результате этого легкие становились восприимчивыми к увеличению альвеолярного пространства и развитию ХОБЛ [172].

В одном из последних исследований установлена роль TRPV2 рецепторов в развитии эффектов при инфицировании SARS-CoV-2. Установлено, что TRPV2 каналы, расположенные на альвеолярных макрофагах, могут выступать в качестве рецепторов данного коронавируса в условиях фебрильной температуры, дополнительно запуская NF-κB p65 сигнальный путь и приводя к увеличению высвобождения провоспалительных цитокинов [220].

На основании литературных источников можно предполагать влияние генетической детерминанты в формирование ГРДП и БА в целом [94,226,195]. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что регуляция уровней экспрессии генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* может играть важную роль в прямых или опосредованных реакциях со стороны различных клеток в дыхательных путях при

респираторной патологии. Например, L.P. McGarvey et al. обнаружили, что у больных с тяжелой, плохо поддающейся терапии БА TRPV1 гиперэкспрессирован в бронхиальном эпителии [105].

В последние годы предпринимаются попытки установить взаимосвязи полиморфизмов генов *TRP* каналов с возникновением той или иной патологии дыхательной системы, в частности, БА, а также отдельных респираторных симптомов. Некоторые из них являются довольно успешными. Например, L.A. Smit et al. [212] определили шесть ОНП *TRPV1*, ассоциированных с возникновением различного вида кашля у взрослых лиц без обструктивной патологии дыхательных путей. Помимо этого, установлено, что чувствительность рецепторов TRPV1 к капсаицину в модели развития кашля у здоровых людей зависит от комбинации минимум двух ОНП соответствующего гена (585I (rs8065080), 469I (rs224534), 315M (rs222747) и 91S (rs222749)) [151]. Помимо чувствительности к капсаицину, было обнаружено, что варианты I315M и T469I усиливали чувствительность рецепторов к воздействию частиц угольной пыли. Вариант I585V был связан с меньшей чувствительностью каналов, так как связан с пониженной трансляцией белка, а 585I обладал очевидной ролью в активации частицами. Одновременно с этим I315M и I585V предрасполагали к более худшему контролю БА. Авторы предполагают, что такой эффект может быть частично обусловлен эффектами повышенной экспрессии TRPA1 на клетках с TRPV1-I585V [52]. Также в одном из исследований обнаружили влияние ОНП rs8065080 (Ile585Val) гена *TRPV1* на риск возникновения свистящих хрипов у детей с БА. При этом носительство варианта Val585 ассоциировалось со снижением функциональной активности соответствующего рецепторного канала TRPV1, в связи с чем, у таких пациентов риск появления симптомов БА в виде свистящих хрипов был ниже, по сравнению с носителями Ile585Ile [133]. Другие исследователи установили также увеличение экспрессии *TRPV1* у детей с БА по сравнению с контрольной группой и определили, что повышенный уровень экспрессии и наличие мутации rs4790522 могут являться рисками развития БА [70].

Вместе с этим, обнаружено, что некоторые ОНП гена *TRPV4* вовлечены в развитие ХОБЛ [39], а также способствуют увеличению экспрессии одноименного канального белка, тем самым способствуя аллергической сенсибилизации и развитию БА [54]. Также в бронхиальном эпителии пациентов с ХОБЛ обнаруживается увеличение экспрессии TRPV1 и TRPV4 [175]. Установлено, что несинонимичный ОНП P19S *TRPV4* чаще приводил гипонатриемии и вызывал снижение активности канала в ответ на воздействие гипотонического стресса и эпоксиэйкозатриеновой кислоты [34]. Этот же ОНП в экспериментах с первичными клетками респираторного эпителия человека приводил к увеличению тока ионов кальция в клетки и активации матричной металлопротеиназы-1 (MMP-1) через взаимодействие рецепторов PAR2 и TRPV4 при воздействии частиц выхлопных газов дизельных двигателей (еще одного распространенного аэрополлютанта). Такая взаимосвязь может объяснить патологические эффекты TRPV4 в развитии заболеваний дыхательных путей у человека [224].

Большое количество пробелов в понимании всех механизмов функционирования каналов TRPV, но при этом несомненно весомый вклад в развитие различных патологических состояний, в частности, при БА, дает повод для дальнейшего их изучения. Накопленные данные позволяют рассматривать рецепторы TRPV1, TRPV2 и TRPV4 как потенциальные мишени для лечения воспалительных реакций. Однако исследования в этой области требуют еще более точных подходов к дизайну экспериментов как *in vivo*, так и *in vitro*, чтобы установить конкретные специфические функции данных каналов и избежать получения ошибочных результатов [106].

Особую прикладную роль демонстрируют исследования фармакологических препаратов, направленных на модуляцию тех или иных нежелательных процессов с участием TRPV [97,143,148]. Ученые совместно с фармацевтическими компаниями уже предпринимают попытки создания лекарственных препаратов против кашля, а также подавляющих нейрогенное воспаление, на основе антагонистов TRPV1 (например, SB705498 и XEN-D0501), но, к сожалению, на настоящий момент такие химические соединения имеют множество побочных

эффектов [91,229,234].

Итак, с учетом всей совокупности имеющейся информации, можно предполагать, что каналы TRPV напрямую или опосредованно связаны с ГРДП на осмотические стимулы. Каскад реакций, запускаемый при активации TRPV, во многом объясняет эффекты осмотического воздействия на дыхательные пути и возникновение бронхоконстрикции. Можно предположить, что именно за счет сигнальных путей с участием TRPV1 развивается бронхоспазм после провокации гиперосмолярными стимулами, в то время как TRPV2 и TRPV4, вероятнее всего, участвуют в гипоосмотически индуцированной бронхоконстрикции. В данном аспекте дальнейшее изучение функционирования каналов TRPV1, TRPV2 и TRPV4 в условиях осмотической ГРДП и их роли в формировании особенностей клинических проявлений и течения БА является актуальным и перспективным.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННОГО КОНТИНГЕНТА

Набор и обследование пациентов производились на базе клинико-диагностического и пульмонологического отделений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (ДНЦ ФПД) в период с 2016 по 2020 год. При реализации данной научной работы руководствовались принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Все пациенты давали письменное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом №114-Д/1 от 22.11.2016, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД. Данная исследовательская работа выполнена в рамках Государственного задания ДНЦ ФПД по теме 060 «Молекулярные механизмы патологических реакций респираторного тракта на климатические факторы у больных хроническими воспалительными заболеваниями органов дыхания» (номер государственной регистрации: АААА-А19-119012290114-5), гранта РНФ №14-25-00019: «Молекулярно-клеточные и генетические механизмы осмотической реактивности дыхательных путей человека» (номер государственной регистрации: АААА-А16-116062710039-8).

Критерии включения пациентов в исследование:

- наличие подтвержденного диагноза БА легкой или средней степени тяжести, выставленного на основании Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) согласно критериям Глобальной инициативы по бронхиальной астме (GINA, 2020) [89] и Федеральных клинических рекомендаций по бронхиальной астме 2019 г.;

- возраст от 18 до 70 лет, независимо от пола;
- наличие подписанного информационного согласия.

Критерии исключения пациентов из исследования:

- возраст менее 18 и более 70 лет;
- наличие тяжелой БА;
- обострение БА;
- значение $ОФВ_1$ менее 60% от должного;
- наличие острого или обострение хронического заболевания;
- наличие сопутствующей декомпенсированной соматической патологии;
- наличие новообразований;
- беременность и период лактации;
- отказ от участия в исследовании.

Обследование больных БА проводилось в соответствии с поставленными задачами и включало в себя общеклинические, функциональные, инструментальные и генетические методы.

2.1. Основные клинико-функциональные методы исследования

2.1.1. Общеклинические методы исследования

На каждого больного, включенного в исследование, была заведена тематическая карта, включающая в себя, наряду с основными клиническими данными, информацию в виде анкет-опросников, а также результатов проведенных исследований.

Анкетирование включало в себя сбор данных о возрасте, половой принадлежности, антропометрических параметрах больного, информацию о трудовой деятельности и профессиональных вредностях.

Пациенты самостоятельно заполняли раздел, посвященный симптомам, беспокоившим их в течение последней недели. Больному предлагалось указать

наличие приступов удушья и их количество в дневное и ночное время, слышимых хрипов при дыхании, наличие и интенсивность кашля (ночью и днем), характер отделяемой мокроты, степень выраженности одышки с градацией от 0 (нет одышки) до 4 (одышка при минимальной физической нагрузке или в покое) в соответствии со шкалой mMRC (Modified Medical Research Council), а также наличие других симптомов – дискомфорт при дыхании, ощущение заложенности в груди, чувство нехватки воздуха.

Сведения анамнеза заболевания включали в себя дату манифестации БА и постановки диагноза, частоту обострений в год, причину развития и длительность данного обострения.

Из анамнеза жизни особое внимание уделялось статусу курения, на основании стажа курения и количества выкуренных сигарет в день вычислялся индекс курения. Также собиралась информация о наследственных заболеваниях и состояниях ближайших кровных родственников пациента, в частности, таких как БА, ХОБЛ, туберкулез, онкологические и сердечно-сосудистые патологии. Больные предоставляли данные о получаемой ими лекарственной терапии: название препаратов, дозировка, кратность и регулярность приема.

Уровень контроля над БА определялся путем подсчета баллов после проведения АСТ-теста (Asthma Control Test, Quality Metric Inc., 2002): 25 баллов – контролируемое течение заболевания, 20-24 баллов – частично контролируемое, ≤19 баллов – неконтролируемое.

Оценку объективного статуса больных проводили по стандартному протоколу путем осмотра, перкуссии, пальпации и аускультации. Уделяли внимание общему состоянию пациента, осматривали кожный покров и видимые слизистые оболочки, производили пальпацию лимфатических узлов, определяли форму грудной клетки, степень участия вспомогательной мускулатуры в акте дыхания в покое. Измеряли окружность грудной клетки, частоту дыхания, перкуторно устанавливали границы легких и сердца, выслушивали дыхательные шумы и тоны сердца.

Всем больным выполняли флюорографическое исследование органов

грудной клетки в 2-х проекциях, проводили электрокардиографию в 12 отведениях.

2.1.2. Исследование вентиляционной функции лёгких

Всем пациентам проводили исследование вентиляционной функции легких (ВФЛ) методом спирометрии. Для этого использовали аппарат «Easy on-PC» (ndd Medizintechnik AG, Швейцария). Показатели ВФЛ оценивали исходно и в динамике после ингаляции бронхолитика или после соответствующей бронхопровокационной пробы.

Перед спирометрией за 6-10 часов пациентам отменяли β_2-агонисты короткого действия (КДБА) и за 12 часов - β_2-агонисты длительного действия (ДДБА). Накануне процедуры больных предупреждали о запрете курения, приема алкогольных и кофеин-содержащих напитков, а также интенсивных физических нагрузок как минимум за 2 часа до проведения исследования. Измерение параметров ВФЛ производили в положении пациента сидя, при этом исключали дыхание через нос путем наложения клипсы.

Для установления обратимости бронхиальной обструкции выполняли бронходилатационную пробу путём сравнения параметров бронхиальной проходимости до и после ингаляции 200 мкг КДБА – сальбутамола. При увеличении $ОФВ_1$ более чем на 12% и на 200 мл по сравнению с исходным значением бронходилатационную пробу считали положительной.

Используя данные кривой «поток-объём» форсированного выдоха при проведении спирометрии, ВФЛ оценивали по таким параметрам, как форсированная жизненная ёмкость лёгких (ФЖЕЛ), объём форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_1$), пиковая объёмная скорость выдоха (ПОС), мгновенная объёмная скорость выдоха на уровне 25%, 50% и 75% ФЖЕЛ ($МОС_{25}$, $МОС_{50}$ и $МОС_{75}$, соответственно), а также средняя объемная скорость в средней части форсированного экспираторного маневра между 25% и 75% ФЖЕЛ ($СОС_{25-75}$). При анализе данных показателей выделяли три типа вентиляционных

нарушений: обструктивный, рестриктивный или смешанный. Степень выраженности подобных изменений оценивали как умеренную (I степень), значительную (II степень) и резко выраженную (III степень) [19].

Дополнительно для определения степени тяжести БА использовали метод мониторирования в течение одной недели пиковой скорости выдоха (ПСВ) с использованием пикфлоуметра «Пульмотест» (ЗАО «Пульмомед», Россия). Пациенты самостоятельно производили измерение показателя ПСВ три раза подряд с небольшим перерывом между манипуляциями, затем регистрировали наибольшее значение в «дневнике пикфлоуметрии». Пикфлоуметрию проводили непосредственно после пробуждения утром и вечером перед сном. В случае, если ПСВ была выше 90% от должного, показатели расценивали как нормальные, при ПСВ более 80% - степень тяжесть БА считали легкой, при ПСВ от 60 до 80% - средней и менее 60% - тяжёлой. На основании полученных результатов рассчитывали суточные колебания между утренними и вечерними значениями ПСВ по формуле: $((ПСВ_{max}-ПСВ_{min})/(ПСВ_{max}+ПСВ_{min})\times 1/2)\times 100\%$. Значение данного показателя в пределах 10% считали нормой, в противном случае – более высокая суточная вариабельность ПСВ позволяла судить о степени тяжести БА, её недостаточном контроле и, соответственно, о необходимости коррекции терапии.

2.1.3. Исследование осмотической гиперреактивности дыхательных путей

Для установления наличия или отсутствия осмотической ГРДП у пациентов использовали различные бронхопровокационные пробы. В исследование включали больных БА с исходным уровнем $ОФВ_1$ не ниже 60%.

Модель гипоосмотически индуцированного бронхоспазма предполагала ингаляцию дистиллированной воды (ИДВ) в течение 3 минут. Гиперосмотически индуцированную ГРДП оценивали двумя методами – с помощью 3-минутной ингаляции гипертонического (4,5% NaCl) солевого раствора (ИГР) и дозированной физической нагрузки (ДФН) с целью изучения постнагрузочного

бронхоспазма.

В экспериментах с применением ингаляционных бронхопровокаций использовали ультразвуковые ингаляторы «Thomex L-2» (Польша), работавшие на полной мощности и производящие аэрозоль со средним диаметром частиц 3 мкм при стабилизированной температуре 37°C, с рабочей емкостью сосуда 30 $см^3$.

Методика проведения бронхопровокационной пробы с дистиллированной водой включала две последовательные ингаляции длительностью 3 минуты. Данная манипуляция производилась при произвольном спокойном дыхании обследуемого в положении сидя. Во время ингаляции пациент дышал через одноразовый загубник, присоединенный к рабочей емкости сосуда с ингалируемым раствором с помощью двухходового клапана. Носовое дыхание исключали путем наложения носовой клипсы. Первую ингаляцию производили с использованием стерильного изотонического (0,9%) раствора натрия хлорида, вторую – с аэрозолем дистиллированной воды. При этом объем, температура и уровень pH растворов для ингаляции были стандартизированы для всех аэрозольных бронхопровокационных проб. До и после проведения ингаляций измеряли общую дозу аэрозоля, доставленную пациенту, путем взвешивания чаши и трубки, исключая клапан. Контроль ВФЛ производили перед началом проб, после ингаляции изотонического раствора натрия хлорида, а также на 1-й и 5-й минутах восстановительного периода после ИДВ. ВФЛ оценивали путем проведения спирометрии по данным кривой «поток-объем» форсированного выдоха. Рассчитывали разницу между абсолютными значениями, полученными до и после бронхопровокации, в процентах от исходных показателей (Δ, %).

Исследование ГРДП с использованием бронхопровокационной пробы ИГР также включало две последовательные ингаляции – с 30 мл стерильного изотонического (0,9%) раствора натрия хлорида и такого же объема гипертонического солевого раствора (4,5% NaCl). Параметры ВФЛ регистрировали при проведении спирометрии до начала бронхопровокации, а также после ингаляции изотонического раствора и на 1-й и 5-й минутах восстановительного периода после ИГР. После этого аналогичным образом

рассчитывали разницу между абсолютными значениями, полученными до и после бронхопровокации, в процентах от исходных показателей (Δ, %).

В качестве еще одного метода создания гиперосмолярных условий в дыхательных путях использовали бронхопровокационную пробу с дозированной физической нагрузкой, выполнявшейся при помощи тредмила (LE 200C, Германия). Во время проведения исследования при помощи пульсоксиметра непрерывно отслеживали частоту сердечных сокращений (ЧСС) и сатурацию крови кислородом. Для каждого пациента индивидуально подбирали уровень нагрузки с учетом его пола, возраста и антропометрических данных. Пробу с ДФН проводили при температуре окружающего воздуха 18-25°С и уровне относительной влажности воздуха 40-45%. Дыхание через нос исключали путем наложения носовой клипсы. Продолжительность исследования составляла 8 минут: в течение 1 минуты – начальный темп ходьбы (2,5 км/час), последующие 3 минуты мощность нагрузки наращивали ежеминутно до достижения субмаксимальной ЧСС, затем 4 минуты пациент выполнял нагрузку при субмаксимальной ЧСС и уровне максимальной вентиляции легких (МВЛ) 60% от должной. Субмаксимальную ЧСС рассчитывали как 75% от максимальной ЧСС (равной *220 - возраст пациента в годах*). Результаты бронхопровокационной пробы с ДФН оценивали по данным кривой «поток-объем» форсированного выдоха. Спирометрию проводили до исследования и после пробы на 1-й и 10-й минутах восстановительного периода. Также рассчитывали разность между абсолютными значениями, полученными до и после бронхопровокации, в процентах от исходных показателей (Δ, %).

Все бронхопровокационные пробы считали положительными при снижении $ОФВ_1$ на 10% и более по сравнению с исходным уровнем.

2.2. Генетические методы исследования

2.2.1. Генотипирование полиморфизмов генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4*

У всех пациентов, включенных в исследование, производили забор периферической венозной крови в пробирки, содержащие ЭДТА, объёмом 5 мл. Образцы замораживали при -20°С и хранили до момента дальнейшей обработки.

ДНК из лейкоцитов крови выделяли при помощи коммерческого набора «ДНК-Экстран-1» (ЗАО «Синтол», Россия). Полученный генетический материал хранили при -20°С для последующего использования в генотипировании ОНП.

Наиболее перспективные ОНП *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* для последующего генотипирования были выбраны на основании базы данных литературных источников PubMed, а также информации о неравновесии по сцеплению между отдельными вариациями с использованием базы HapMap для подбора таргетных полиморфизмов (tagSNP) с расчетом не менее одного на блок сцепления и частотой минорного аллеля >0,10. Дополнительный отбор среди найденных вариантов произведен с учетом прогнозирования функциональной значимости сайтов *in silico*, с использованием аннотаций базы RegulomeDB [37]. ОНП, представляющие интерес для данного исследования, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Список ОНП генов *TRPV* для генотипирования

№	Ген	Идентификатор ОНП в базе NCBI	Замена нуклеотида/ аминокислоты	Участок гена
1	*TRPV1*	rs222747	c.945G>C/Met315Ile	Экзон
2		rs224534	c.1406G>A/Thr469Ile	Экзон
3		rs8065080	c.1753A>G/Ile585Val	Экзон
4	*TRPV2*	rs7217735	g.16412605A>G	5`-фланкирующая область
5		rs3813769	c.-323A>G	5`-нетранслируемый регион
6		rs1129235	c.427A>C/Arg143Arg	Экзон
7	*TRPV4*	rs6606743	g.109841374G>A	5`-фланкирующая область
8		rs7971845	c.-31-8070G>C	Интрон

Определение генотипов для семи ОНП (кроме rs7217735) проводилось методом полимеразной цепной реакции с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). Генотипирование ОНП rs7217735 гена *TRPV2* осуществлялось методом асимметричной ПЦР с анализом плавления немеченого олигонуклеотидного зонда. Праймеры, использованные в реакциях амплификации, приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Структура олигонуклеотидов, использованных в реакциях ПЦР

ОНП	Олигонуклеотидные последовательности (праймеры и немеченый зонд)*
TRPV1 rs222747	FWD 5’-AACACGAAGTTTGTGACGAGCATGT-3’
	REV 5’-CGTCATTCCCTTCTTGTTGGTGAG-3’
TRPV1 rs224534	FWD 5’-CAGCCTCCCTTTAAGATGGAAA**C**AA-3’
	REV 5’-TCACAATGTGGGAAGGAACGCT-3’
TRPV1 rs8065080	FWD 5’-CCTGTGCCGTTTCATGTT**GA**TCTAC-3’
	REV 5’-TTCAGAAGGCTCAGCCAAGCAG-3’
TRPV2 rs3813769	FWD 5’-CAGATGGTCAGTCTCTGGTGGCTA-3’
	REV 5’-AGCAGGTTCTGGTCTCTCGGTC-3’
TRPV2 rs1129235	FWD 5’-TCTTCCCACAGAGGGCTCCACAG-3’
	REV 5’-ATCCAAGAAAGGCTCACTCACCG-3’
TRPV2 rs7217735	FWD 5’-AGCCTTCTTGAGCACCACTT-3’
	REV 5’-ACTCCCAGAGCAACCTTATTTCAC-3’
	Probe 5’-GATCTCACCCCTTGGAAAGTATGGTGGTAA-3’
TRPV4 rs6606743	FWD 5’-ACAAGAGAGGGTGGCAGTGGGT-3’
	REV 5’-TCTGTCGCCCCCTACTCACAGGA**T**C-3’
TRPV4 rs7971845	FWD 5’-ATTGCCTTCCTTGGTCCTCAGT-3’
	REV 5’-CAGTCAAGCATGGCTGCTGTT-3’

Примечание: * подчеркнутые нуклеотиды изменены для введения сайта рестрикции. FWD – прямой праймер, REV – обратный праймер, Probe – немеченый олигонуклеотидный зонд.

При проведении ПЦР для всех ОНП, кроме rs7217735, использовалась смесь, включающая в себя: ДНК-матрицу – 100 нг, 1х ПЦР-буфер, содержащий Sybr Green I, $MgCl_2$ – 3 мМ, dNTP – 0,2 мМ, праймеры – по 0,2 мкМ каждого, Hot Start Taq-полимеразу, ингибированную антителами – 1 ЕД, воду – до 12,5 мкл. Амплификация образцов производилась на аппарате ДТ-96 («ДНК-технология», Россия) в следующем режиме: 1 цикл – предварительная денатурация 95°С/2,5 мин; 35 циклов – денатурация 95°С/20 сек, отжиг 62°С/30 сек, элонгация 72°С/30

сек; 1 цикл – финальная элонгация - 72°C/5 мин. Температура отжига для двух ОНП rs6606743 и rs7971845 отличалась от других и составляла 60°C и 64°C, соответственно.

Смесь для ПЦР, использованная при генотипировании rs7217735, включала в себя: ДНК-матрицу – 100 нг, 1x ПЦР-буфер, содержащий EvaGreen, $MgCl_2$ – 2,5 мМ, dNTP – 0,25 мМ, праймеры – обратный – 0,12 мкМ, прямой – 0,02 мкМ, немеченый зонд – 0,12 мкМ, Hot Start Taq-полимеразу, ингибированную антителами – 1 ЕД, воду – до 25 мкл. Амплификация осуществлялась в режиме: 1 цикл – предварительная денатурация 95°C/2,5 мин; 70 циклов – денатурация 95°C/20 сек, отжиг 60°C/30 сек, элонгация 72°C/30 сек; 1 цикл – финальная элонгация – 72°C/5 мин. Анализ плавления: предварительная денатурация при 95°C/3 мин, гибридизация – 40°C/3 мин, плавление с градиентным повышением температуры от 40°C до 90°C с шагом 0,5°C/0,2 мин. На кривой плавления регистрировали наличие двух пиков – с T_m=67°C (аллель A) и с T_m=62,5°C (аллель G). Если в образце фиксировался один вид пика, то ему присваивался соответствующий гомозиготный генотип (AA или GG в зависимости от температуры), в противном случае он считался гетерозиготным (AG).

Для ОНП, определяемых с помощью ПЦР-ПДРФ, проводилась обработка амплификата эндонуклеазами рестрикции (рестриктазами). Протоколы рестрикции представлены в таблице 3.

Для контроля результатов производился электрофорез продуктов амплификации и рестрикции в 4% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализацией на трансиллюминаторе (Vilber Lourmat, Франция) (рисунок 1).

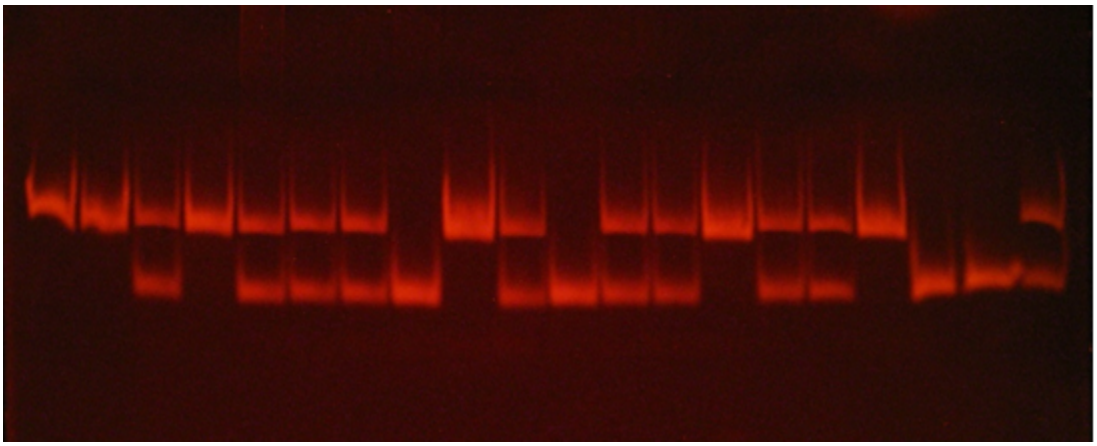


Рисунок 1 - Электрофорез продуктов рестрикции ОНП *TRPV2* rs3813769 в 4% полиакриламидном геле после окрашивания бромистым этидием.

Таблица 3 – Схема обработки образцов эндонуклеазами рестрикции

ОНП	Длина продукта амплификации, п.н.	Рестриктаза	Условия рестрикции	Генотип и фрагменты рестрикции
rs222747 (Met315Ile)	105	*Bse8I*, 5 ЕД	60°C – 16 часов	CC – 37 и 68 п.н.; CG – 37, 68 и 105 п.н.; GG – 105 п.н.
rs224534 (Thr469Ile)	121	*MfeI*, 5 ЕД	37°C – 16 часов	AA – 23 и 98 п.н.; AG – 23, 98 и 121 п.н. GG – 121 п.н.
rs8065080 (Ile585Val)	113	*Bse8I*, 5 ЕД	60°C – 16 часов	AA – 23 и 90 п.н.; AG – 23, 90 и 113 п.н.; GG – 113 п.н.
rs3813769 (c.-323A>G)	115	*AccBSI*, 5 ЕД	37°C – 16 часов	AA – 115 п.н.; AG – 56, 59 и 115 п.н.; GG – 56 и 59 п.н.
rs1129235 (c.427A>C)	323	*AsuC2I*, 5 ЕД (2 сайта рестрикции)	37°C – 16 часов	AA – 72 и 251 п.н.; AC – 72, 104, 147 и 251 п.н.; CC – 72, 104 и 147 п.н.
rs6606743 (g.109841374G>A	114	*TaqI*, 10 ЕД	37°C – 16 часов	AA – 114 п.н.; AG – 24, 90 и 114 п.н.; GG – 24 и 90 п.н.
rs7971845 (c.-31-8070G>C)	104	*HinfI*, 10 ЕД	37°C – 16 часов	CC – 24 и 80 п.н.; CG – 24, 80 и 104 п.н.; GG – 104 п.н.

Примечание: п.н. – пары нуклеотидов.

2.2.2. Определение уровней экспрессии генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* в респираторном эпителии.

В качестве биологического материала использовали клетки из полости носа и бронхов, полученные методом браш-биопсии. Забор материала производили перед проведением бронхопровокационных проб. Под риноскопическим контролем назальный эпителий получали с помощью цитологических щеток из нижней носовой раковины. Клетки бронхиального эпителия собирали при проведении диагностической видеобронхоскопии (Karl Storz, Германия). Материал немедленно подвергали обработке RNAprotect Cell Reagent (Qiagen, Германия) и замораживали при температуре -80ºС до следующего этапа. Далее с помощью коммерческого набора RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen, Германия) производили выделение РНК. Данный процесс включал в себя гомогенизацию образцов с помощью колонок QIAshredder (Qiagen, Германия), а также этапы удаления геномной ДНК на колонках gDNA Eliminator Mini Spin Columns, непосредственного осаждения тотальной РНК на колонках RNeasy Mini Spin Column и её элюирования в 30 мкл воды, не содержащей РНКаз. После экстракции качество РНК оценивали с помощью электрофореза в 1% агарозном геле с последующим окрашиванием флуоресцентным красителем – бромистым этидием и визуализацией на трансиллюминаторе (Vilber Lourmat, Франция). Качественная РНК демонстрировала четко выраженное разделение субъединиц – 28S и 18S, с соотношением интенсивности полос 2:1. Образцы без признаков существенной деградации аликвотировали по 5 мкл и замораживали при -80ºС.

Обратную транскрипцию РНК проводили с помощью набора реагентов ОТ-1 (Синтол, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Полученную кДНК хранили при -20ºС для последующего этапа.

Для анализа относительных уровней экспрессии исследуемых генов *TRPV* были выбраны три референсных гена: *PPIA* (пептидилпролил изомераза А или циклофилин А), *B2M* (бета-2-микроглобулин), *RPLP0* (60 S кислый

рибосомальный белок P0), достаточно стабильно экспрессирующиеся в клетках. Оценку экспрессии производили с помощью ПЦР в реальном времени в присутствии интеркалирующего красителя EvaGreen (Синтол, Россия). Праймеры, использованные в реакции амплификации, приведены в таблице 4.

В реакции ПЦР использовали смесь компонентов: кДНК-матрица – 100 нг; 1x ПЦР-буфер, содержащий EvaGreen, $MgCl_2$ (концентрация указана в таблице 4); dNTP – 0,25 мМ, обратный праймер – 0,2 мкМ, прямой праймер – 0,2 мкМ, Hot Start Taq-полимераза, ингибированная антителами – 1 ЕД, вода – до 25 мкл. Амплификация проводилась в режиме: 1 цикл – предварительная денатурация – 95ºC/3 мин; 45 циклов – денатурация 95ºC/20 сек, отжиг 62ºC/30 сек, элонгация – 72ºC/30 сек; финальная элонгация – 72ºC/5 мин. Образцы амплифицировали в трехкратных повторах для каждого гена. Затем из трёх полученных значений пороговых циклов (Ct) вычисляли среднее арифметическое для каждого случая.

Таблица 4 – Список праймеров и концентрация магния, использованные в ПЦР для исследования экспрессии генов

Ген	Олигонуклеотидные последовательности	$MgCl_2$, мМ
PPIA	FWD 5’- ACGTGGTATAAAAGGGGCGG -3’	2,0
	REV 5’- CTTGTCTGCAAACAGCTCAAAGG -3’	
B2M	FWD 5’- CCGTGTGAACCATGTGACTTTGT -3’	2,0
	REV 5’- TGCGGCATCTTCAAACCTCC -3’	
RPLP0	FWD 5’- TTAAACCCTGCGTGGCAATCCCT -3’	2,0
	REV 5’- CCACATTCCCCCGGATATGAGGC -3’	
TRPV1	FWD 5’- TCAACAAGATCGCACAGGAGAGC -3’	1,0
	REV 5’- CTGCCTGAAACTCTGCTTGACCG -3’	
TRPV2	FWD 5’- GCTGGTGCTTCAGGGTGGAGGA -3’	1,0
	REV 5’- TTGGACTGGAGGAGCTGGACGG -3’	
TRPV4	FWD 5’- TGGTGCTTCAGGGTGGATGA -3’	1,5
	REV 5’- GAAGGCACTGCTGAAATGCG -3’	

С помощью программного инструмента RefFinder [145] из трёх кандидатов на референсный ген был определен один, наиболее стабильно экспрессирующийся в эпителии дыхательных путей.

Анализ уровней экспрессии генов проводили в программном обеспечении

REST 2009 V2.0.13, (Qiagen GmbH, 2009), осуществляющем коррекцию на эффективность амплификации каждого гена, а также техники рандомизации и бутстрэппинга для повышения точности статистических вычислений.

2.3. Статистический анализ результатов исследования

Статистическую обработку полученных данных производили с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft, Inc. 2011). В ходе анализа результатов исследования были использованы как параметрические (для величин с нормальным распределением), так и непараметрические (для величин с распределением, отличным от нормального) методы статистики. В качестве достоверного критерия значимости считали значение $p<0,05$.

Нормальность распределения исследуемых количественных переменных анализировали с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. При отсутствии значимости данных критериев считалось, что показатели соответствовали закону нормальности. Равенство дисперсий проверяли критерием Левина. При нормальном распределении величин описательная характеристика количественных значений представлена в виде M±m, где M – среднее арифметическое, а m – стандартная ошибка среднего. В случаях распределения количественных величин, отличного от нормального, использовали показатель Me (q1; q3), где Me – медиана, q1 и q3 – нижний (25%) и верхний (75%) квартили, соответственно.

Для оценки степени соответствия равновесию Харди-Вайнберга частот генотипов исследуемых ОНП применяли критерий χ^2 Пирсона. Анализ ассоциаций между качественными признаками производили также с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность. Точный критерий Фишера использовали в выборках с малым количеством наблюдений.

При сравнительном анализе двух независимых выборок методом параметрической статистики использовали t-тест Стьюдента, зависимых – парный t-критерий. Корреляционный анализ производили при помощи критерия r

Пирсона.

В качестве методов непараметрической статистики для множественных сравнений использовали анализ Краскела-Уолиса, а для парных сравнений – тест Манна-Уитни. Критерий Вилкоксона применяли в случае сравнения в двух зависимых выборках. При оценке связей между парными переменными использовали ранговый корреляционный анализ Спирмена (R).

На основании таблиц сопряженности рассчитывали показатель отношения шансов (ОШ), который количественно описывает связи с определенным исходом при наличии или отсутствии конкретного фактора.

Построение прогнозных математических моделей осуществляли методом биномиальной логистической регрессии. Информативность метода оценивали при помощи построения графика в ходе ROC-анализа. При этом вычисляли значения площади под кривой (AUC) и другие операционные характеристики.

2.4. Клиническая характеристика обследованных лиц

В исследовании приняло участие 300 человек европеоидной расы в возрасте от 18 до 64 лет с подтвержденным диагнозом БА средней и легкой степени тяжести. Всем пациентам было рекомендовано лечение в соответствии со степенью тяжести БА на основании принципов ступенчатой терапии согласно Федеральным клиническим рекомендациям и GINA. Основными препаратами для лечения выступали ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС) в низких или средних дозах в комбинации с КДБА (беклометазон/сальбутамол) либо в комбинации с ДДБА (будесонид/формотерол; беклометазона дипропионат/формотерол; салметерол/флутиказон) на регулярной основе. Режим дозирования зависел от степени тяжести БА и уровня контроля. Приверженность терапии наблюдалась у 62% обследованных.

Средний возраст обследованного контингента составил 37,0±0,63 лет. Из них 116 человек (38,7%) – мужчины и 184 (61,3%) – женщины. Среди пациентов превалировала смешанная форма (J45.8) БА (209 человек – 69,7%), в то время как

БА с преобладанием аллергического компонента (J45.0) и неаллергическая БА (J45.1) встречались у 73 (24,3%) и 18 (6,0%) больных, соответственно. У большинства обследованных установлено среднетяжелое течение БА (191 человек – 63,6%) и в 109 случаях – легкое течение (36,5%). Подавляющее большинство пациентов, включенных в исследование, имели неконтролируемое (164 человека – 54,7%) или частично контролируемое (104 человека – 34,5%) заболевание.

Исходя из результатов выполненных бронхопровокационных проб, все пациенты были поделены на соответствующие группы: в I группу включены пациенты, которым выполнена проба с ингаляцией дистиллированной воды (ИДВ), во II группу – с ингаляцией гипертонического раствора (ИГР) и в III – с дозированной физической нагрузкой (ДФН). В каждой группе выделены по две подгруппы – лица с положительным (a) и отрицательным (b) ответом на бронхопровокационную пробу. За критерий положительной пробы принимали снижение $ОФВ_1$ на 10% и больше от исходного. Схема распределения больных в рамках данного дизайна представлена в таблице 5.

Таблица 5 – Распределение больных в группах исследования осмотической ГРДП

Исследуемая группа	Общее количество обследованных лиц, n	a – пациенты с положительной пробой, n (%)	b – пациенты с отрицательной пробой, n (%)
I группа (ИДВ)	298	100 (33,6)	198 (66,4)
II группа (ИГР)	141	42 (29,8)	99 (70,2)
III группа (ДФН)	112	22 (19,6)	90 (80,4)

Примечание: n – количество пациентов, % – процентное отношение количества пациентов к общему числу обследованных в группе.

Относительно распределения пациентов в исследуемых группах по

половому признаку не было выявлено статистически значимых различий (p>0,05), и выборки характеризовались однородностью по данному параметру. Соотношение мужчин и женщин в подгруппах изучения осмотической ГРДП соответствовало общей группе. Результаты представлены в таблице 6.

Обследованный контингент был представлен в возрастных категориях в соответствии с принятыми Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 2012 г. возрастными периодами жизни человека (таблица 7, 8 и 9).

Подавляющее большинство больных, включенных в данную работу, были молодого возраста в пределах 18-44 лет (224 человека – 74,7%). Среди пациентов I группы средний возраст обследуемых составил 37,0±0,63 лет, в подгруппе с положительной пробой на ИДВ (a) – 37,4±0,77 лет, с отрицательной пробой (b) – 36,2±1,12 лет. Во II группе испытуемых – 38,9±0,89 лет, в подгруппе a и b 37,8±1,76 и 39,3±1,03 лет, соответственно. Средний возраст больных в III группе 38,4±0,90 лет, в подгруппе с положительной пробой на ДФН (a) – 37,4±1,80 лет, с отрицательной пробой (b) – 38,6±1,04 лет. Значимых различий не обнаружено ни в одной из анализируемых групп (p>0,05).

Таблица 6 – Распределение больных БА по полу в клинических группах

Клиническая группа	Клиническая подгруппа	Мужчины, n (%)	Женщины n (%)	Значимость
Группа I	a	38 (38,0)	62 (62,0)	χ^2=0,05,
	b	78 (39,4)	120 (60,7)	p>0,05
Группа II	a	16 (38,1)	26 (61,9)	χ^2=0,01,
	b	37 (37,4)	62 (62,6)	p>0,05
Группа III	a	9 (40,9)	13 (59,1)	χ^2=0,04
	b	39 (43,3)	51 (56,7)	p>0,05

Примечание: n – количество пациентов, % – процентное отношение количества пациентов к общему числу обследованных в группе, p – статистическая значимость различий в сравниваемых подгруппах a и b в пределах одной группы.

Таблица 7 – Распределение пациентов по возрастным категориям жизни человека в группе с бронхопровокационной пробой с ИДВ

Возрастной период	Группа Ia, n (%)	Группа Ib, n (%)
Молодой возраст (18-44 лет)	75 (75,0)	142 (71,7)
Средний возраст (45-59 лет)	24 (24,0)	53 (17,8)
Пожилой возраст (60-74 лет)	1 (1,0)	3 (1,5)
Старческий возраст (75-90 лет)	0 (0)	0 (0)
Долголетие (90+ лет)	0 (0)	0 (0)

Примечание: здесь и далее n – количество пациентов, % – процентное отношение количества пациентов к общему числу обследованных в группе.

Таблица 8 – Распределение пациентов по возрастным категориям жизни человека в группе с бронхопровокационной пробой с ИГР

Возрастной период	Группа IIa, n (%)	Группа IIb, n (%)
Молодой возраст (18-44 лет)	29 (69,0)	71 (71,7)
Средний возраст (45-59 лет)	13 (31,0)	26 (26,3)
Пожилой возраст (60-74 лет)	0 (0)	2 (2,0)
Старческий возраст (75-90 лет)	0 (0)	0 (0)
Долголетие (90 лет и больше)	0 (0)	0 (0)

Таблица 9 – Распределение пациентов по возрастным категориям жизни человека в группе с бронхопровокационной пробой с ДФН

Возрастной период	Группа IIIa, n (%)	Группа IIIb, n (%)
Молодой возраст (18-44 лет)	18 (81,8)	67 (74,4)
Средний возраст (45-59 лет)	4 (18,2)	23 (25,6)
Пожилой возраст (60-74 лет)	0 (0)	0 (0)

Старческий возраст (75-90 лет)	0 (0)	0 (0)
Долголетие (90+ лет)	0 (0)	0 (0)

В общей когорте пациентов средняя продолжительность заболевания составила 5,2±0,34 лет. Статистически значимых различий при сравнении стажа заболевания в группах больных с наличием или отсутствием осмотической ГРДП не обнаружено (таблица 10).

Среди пациентов всех сравниваемых групп превалировала смешанная форма (J45.8) БА. Наряду с этим в выборках встречались две другие формулировки диагноза: БА с преобладанием аллергического компонента (J45.0) и неаллергическая БА (J45.1). Характеристика изучаемых групп в зависимости от формы заболевания представлена в таблице 11. Значимых различий между сравниваемыми выборками в зависимости от наличия или отсутствия ГРДП на осмотический стимул обнаружено не было.

Таблица 10 – Распределение пациентов в зависимости от длительности БА (n(%))

Клиническая группа	Стаж БА			Значимость
	≤3, лет	3<X<5, лет	≥5, лет	
Группа Ia	59 (59,0)	8(8,0)	33 (33,0)	χ^2=2,27, p>0,05
Группа Ib	105 (53,0)	11 (5,6)	82 (41,4)	
Группа II a	24 (57,1)	6 (14,2)	12 (28,5)	χ^2=1,43, p>0,05
Группа II b	51 (51,5)	10 (10,1)	38 (38,4)	
Группа III a	14 (63,6)	2 (9,1)	6 (27,3)	χ^2=1,12, p>0,05
Группа III b	46 (51,1)	11 (12,2)	33 (36,7)	

Таблица 11 – Распределение пациентов в зависимости от формы БА

Клиническая группа	Смешанная БА, n (%)	Аллергическая БА, n (%)	Неаллергическая БА, n (%)	Значимость
Группа Ia	72 (72,0)	21 (21,0)	7 (7,0)	χ^2=0,29, p>0,05
Группа Ib	138 (69,7)	47 (23,7)	13 (6,5)	
Группа II a	30 (71,4)	9 (21,4)	3 (7,1)	χ^2=0,39,

Группа II b	67 (67,7)	26 (26,3)	6 (6,1)	p>0,05
Группа III a	15 (68,2)	6 (27,3)	1 (4,5)	χ^2=0,06,
Группа III b	62 (68,9)	23 (25,6)	5 (5,5)	p>0,05

Примечание: здесь и в таблице 12 n – количество пациентов, % – процентное отношение количества пациентов к общему числу обследованных в группе, p – значимость различий в сравниваемых подгруппах a и b в пределах одной группы.

Относительно сопутствующей патологии у 86% всех обследованных преобладали заболевания разных отделов дыхательных путей, сердечно сосудистой и пищеварительной систем. Стоит отметить, что все сопутствующие болезни находились вне стадии обострения и по тяжести были компенсированы. Достоверных различий в сравниваемых группах обнаружено не было, заболевания примерно с одинаковой частотой встречались как у больных с ГРДП, так и без ГРДП, вне зависимости от действующего стимула – ИДВ, ИГР или ДФН. Общая характеристика сопутствующей патологии представлена в таблице 12.

Таблица 12 – Частота сопутствующей патологии в общей когорте обследованных больных с БА

Заболевание	Количество больных, n (%)
Хронический ринит	124 (41,3)
Хронический синусит	63 (21,0)
Хронический фарингит/тонзиллит/ларингит	74 (24,7)
Хронический необструктивный бронхит	99 (33,0)
Хронический гастрит	32 (10,7)
Хронический панкреатит	6 (2,0)
Гипертоническая болезнь	26 (8,7)
ИБС. Стенокардия/нарушение сердечного ритма	11 (3,7)
Гепатит В	1 (0,3)
Сахарный диабет	9 (3,0)
Узловой зоб/тиреоидит/гипотиреоз	7 (2,3)
Синдром Жильбера	1 (0,3)
Простатит	1 (0,3)

Хронический пиелонефрит	12 (4,0)
Мочекаменная болезнь	4 (1,3)

Примечание: n – количество пациентов, % – процентное отношение количества пациентов к общему числу обследованных в группе.

При анализе анамнеза наследственных заболеваний было выявлено, что 63 пациента (21%) имели кровных родственников, страдающих БА. Статистически значимых различий между группами независимо от наличия или отсутствия осмотической ГРДП выявлено не было ($p>0,05$).

Среди обследованных курильщики составили около 26% со средним стажем курения 3,97±0,64 пачка/лет. Из них 50% — это пациенты, бросившие курить. При ассоциативном анализе не выявлено прямых взаимосвязей ГРДП со статусом курения. Однако, установлено, что, чем выше значение индекса курения (ИК), тем тяжелее протекает БА и ниже уровень контроля над заболеванием ($p=0,057$). Для удобства пациенты разделены на тех, у кого ИК≥10 пачка/лет и у кого ИК, соответственно, <10 пачка/лет. При этом взаимосвязь с тяжестью БА была значимой и для ИК≥5 пачка/лет ($p=0,008$), но более выражена для пациентов с ИК≥10 пачка/лет ($p=0,004$). Вместе с этим обнаружена взаимосвязь курения с исходным уровнем показателей ВФЛ. Данные продемонстрированы в таблице 13, а также на рисунке 2.

Таблица 13 – Ассоциация тяжести БА с ИК, n (%)

Степень тяжести БА	ИК<10 пачка/лет	ИК≥10 пачка/лет	Значимость
Легкая	73 (24,3)	2 (0,7)	$\chi^2=8,48$, $p<0,01$
Средняя	179 (59,7)	46 (15,3)	

Примечание: n – количество пациентов, % – процентное отношение количества пациентов к общему числу обследованных.

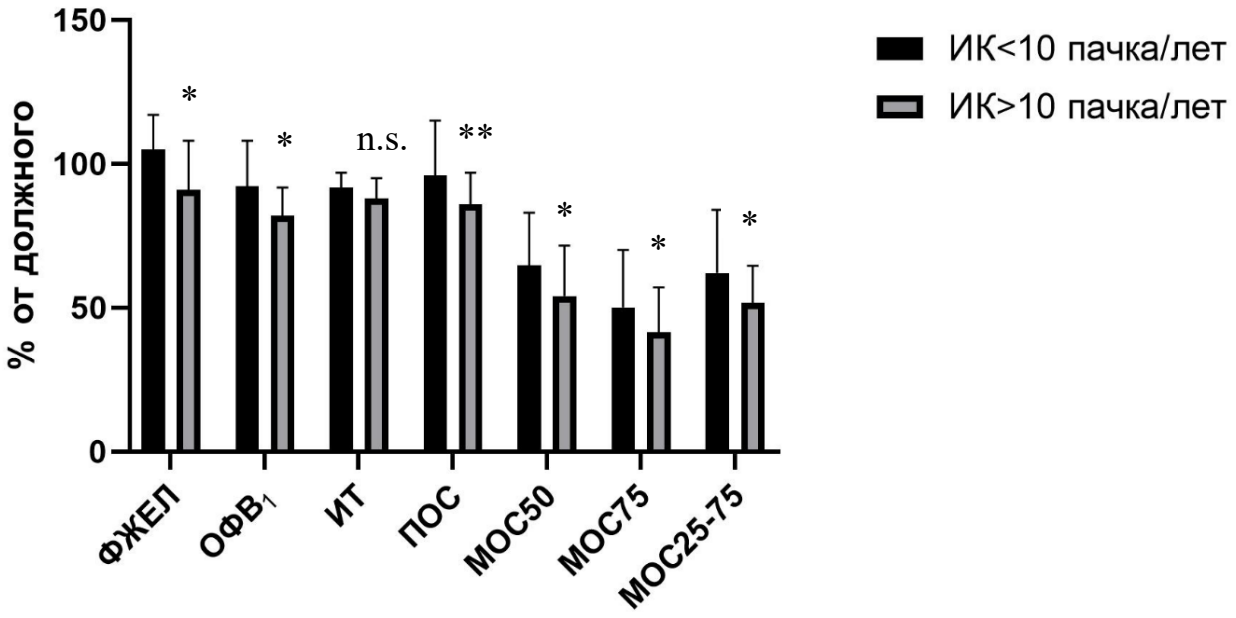


Рисунок 2 – Значения исходных параметров вентиляционной функции легких в зависимости от индекса курения.

Примечание: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; n.s. – статистически не значимо.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ВАНИЛЛОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА РАЗВИТИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

3.1. Общая характеристика исследованных полиморфизмов

В ходе исследования были проанализированы 8 ОНП генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4*, которые, как предполагается, могут играть роль в формировании осмотической ГРДП человека в условиях уже имеющейся респираторной патологии. Оценка встречаемости аллельных вариаций данных генов произведена среди больных БА с различным ответом бронхов на ингаляционное осмотическое воздействие, а также некоторыми клинико-функциональными параметрами пациентов.

Определены генотипы ОНП *TRPV1* и *TRPV2* у 168 человек, *TRPV4* – у 186.

Частоты генотипов всех исследованных ОНП находились в равновесии Харди-Вайнберга и не отличались от ожидаемых ($p>0,05$) (таблица 14).

При статистическом анализе взаимосвязей исследуемых ОНП с формированием гипоосмотической ГРДП были обнаружены значимые результаты для генов *TRPV2* и *TRPV4*. Один из ОНП-кандидатов *TRPV1* продемонстрировал возможную роль в развитии бронхоспазма в ответ на физическую нагрузку.

3.2. Взаимосвязь полиморфизмов *TRPV* с гиперреактивностью дыхательных путей на гипоосмотический стимул

Обнаружено, что значимую ассоциацию с ГРДП в ответ на бронхопровокационную пробу с ИДВ имеет синонимичный ОНП rs1129235.

Результаты статистических расчетов демонстрируют патогенное влияние аллеля С в кодоминантной ($p=0,009$), рецессивной (ОШ 3,54 95%ДИ (1,55; 8,07),

p=0,002) и Log-аддитивной (ОШ 2,00 95%ДИ (1,20; 3,32), p=0,006) моделях наследования.

Таблица 14 – Наблюдаемые частоты исследованных ОНП

Ген	Идентификатор ОНП в базе NCBI	Генотип	Полученная частота	Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга
TRPV1	rs222747	CC	0,46	χ^2=1,61, p=0,2
		CG	0,46	
		GG	0,07	
	rs224534	AA	0,13	χ^2=0,97, p=0,33
		AG	0,52	
		GG	0,35	
	rs8065080	AA	0,32	χ^2=0,2, p=0,65
		AG	0,51	
		GG	0,17	
TRPV2	rs7217735	AA	0,59	χ^2=0,03, p=0,86
		AG	0,36	
		GG	0,05	
	rs3813769	AA	0,52	χ^2=0,56 p=0,45
		AG	0,39	
		GG	0,09	
	rs1129235	AA	0,3	χ^2=0,17, p=0,68
		AC	0,51	
		CC	0,19	
TRPV4	rs6606743	AA	0,21	χ^2=0,23, p=0,63
		AG	0,52	
		GG	0,27	
	rs7971845	CC	0,61	χ^2=1,61, p=0,2
		CG	0,33	
		GG	0,06	

Шанс возникновения гипоосмотической ГРДП в 4,05 раза выше у носителей гомозиготного генотипа CC, по сравнению гомозиготами AA (ОШ 4,05 95%ДИ

(1,52; 10,81), p=0,02). Ассоциация оказалась значимой независимо от пола и возраста (скорректированное p для рецессивной модели составило 0,002). Данные представлены в виде графиков на рисунках 3 и 4.

Данный результат подтверждается значимым различием в изменении $ОФВ_1$ в ответ на ИДВ. Аналогичным образом у пациентов с CC генотипом наблюдалось более выраженное падение $ОФВ_1$ в отличие от носителей AA и AC генотипов, средние значения $\Delta ОФВ_1$ -10,0 (-19,0; -1,5)%, -3,8 (-7,7; -1,0)% и -4,5 (-10,0; 0,01)%, p=0,018 и p=0,019, соответственно (рисунок 5).

При среднетяжелой БА в сочетании с носительством генотипа CC взаимосвязь оказалась более выражена, при этом шанс развития гипоосмотической ГРДП увеличился почти вдвое и составил 7,50 95%ДИ (2,17; 25,91), p=0,002.

Рисунок 3 – Распределение генотипов ОНП rs1129235 среди пациентов в зависимости от наличия или отсутствия гипоосмотической ГРДП (кодоминантная модель наследования).

Рисунок 4 – Распределение генотипов ОНП rs1129235 среди обследованных пациентов в зависимости от наличия или отсутствия гипоосмотической ГРДП в рецессивной модели наследования.

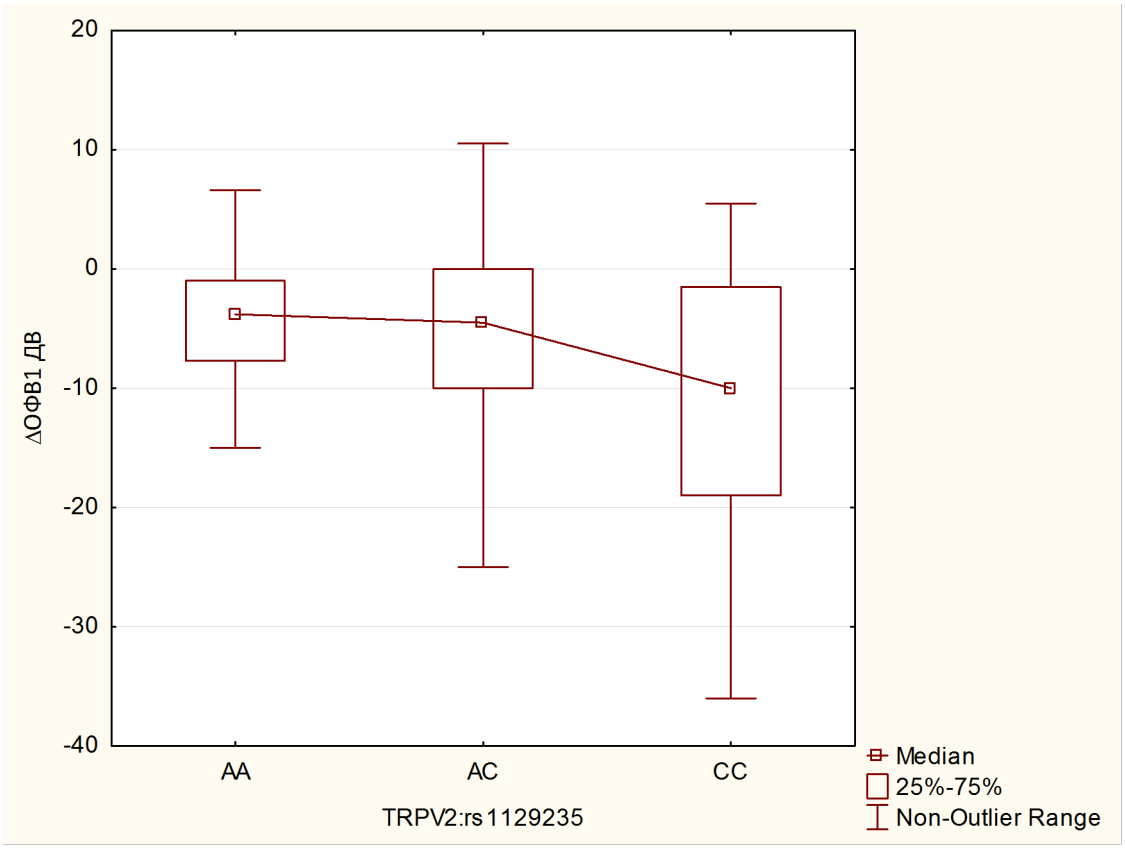


Рисунок 5 – $\Delta ОФВ_1$ в ответ на бронхопровокационную пробу с ИДВ у пациентов с различными генотипами ОНП rs1129235.

Для ОНП rs3813769 гена *TRPV2*, расположенного в 5`-нетранслируемом регионе, также была выявлена взаимосвязь с гипоосмотическим бронхоспазмом. В данном случае мутантный аллель G в гомозиготном состоянии, напротив, оказывал протективное влияние в отношении проявления ГРДП. Ассоциация оказалась значимой в кодоминантной (p=0,001), рецессивной (p<0,001) и Log-аддитивной (ОШ 0,47 95%ДИ (0,26; 0,84), p=0,007) моделях наследования (рисунки 6 и 7).

Дополнительно к полученным результатам по ассоциации с осмотической ГРДП установлена достоверная взаимосвязь со степенью изменения $ОФВ_1$ в ответ на бронхопровокационную пробу. При этом пациенты с GG генотипом имели менее выраженное снижение $ОФВ_1$ в ответ на ИДВ по сравнению с носителями AA и AG генотипов (-2,4 (-4,6; 1,8)% против -6,1 (-11,8; -1,2)% и -4,9 (-11,3; -0,2), p=0,01 и p=0,06, соответственно) (рисунок 8).

Рисунок 6 – Распределение генотипов ОНП rs3813769 в зависимости от наличия или отсутствия гипоосмотической ГРДП в кодоминантной модели наследования.

Рисунок 7 – Распределение генотипов ОНП rs3813769 среди обследованных лиц в зависимости от наличия или отсутствия гипоосмотической ГРДП в рецессивной модели наследования.

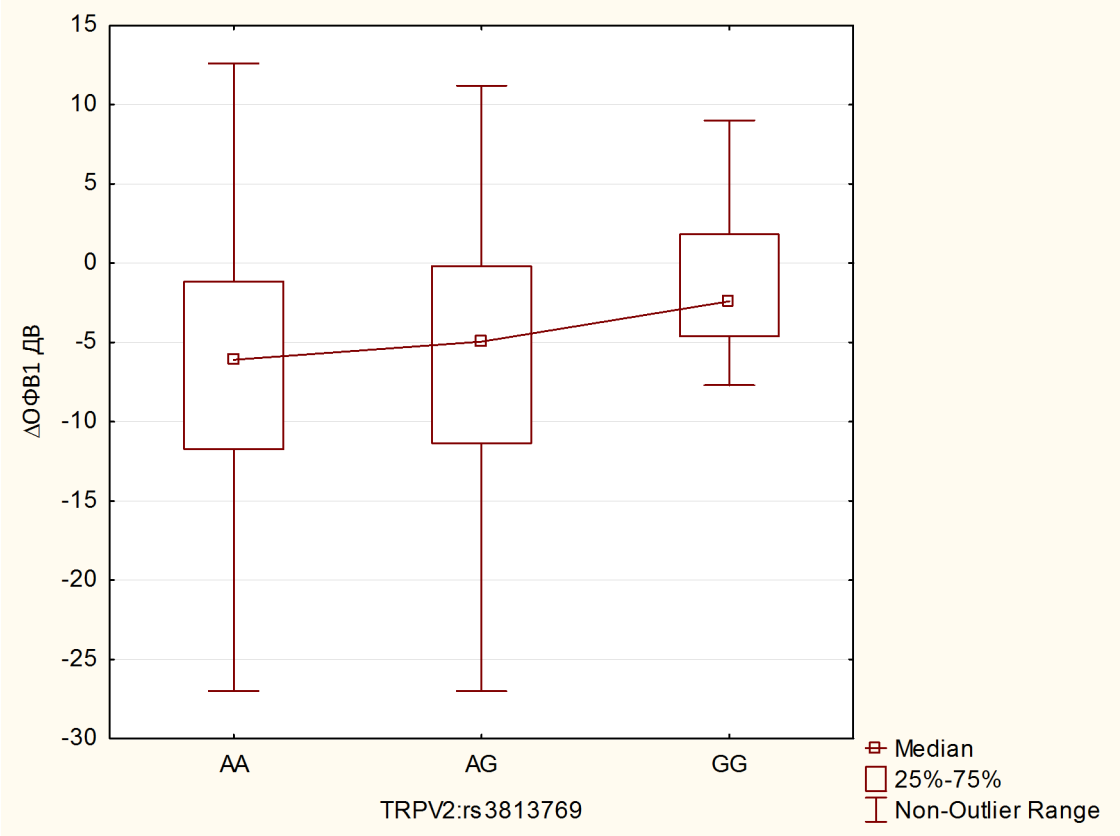


Рисунок 8 – $\Delta ОФВ_1$ в ответ на бронхопровокационную пробу с ИДВ у пациентов с различными генотипами ОНП rs3813769.

Аналогичная ситуация наблюдалась и для ОНП rs7217735. Для него характерна была также протективная роль аллеля G в формировании осмотической ГРДП в ответ на бронхопровокационную пробу с ИДВ. Значимость ассоциации подтверждена в кодоминантной (p=0,013), доминантной (ОШ 0,45 95%ДИ (0,22; 0,95), p=0,032) и Log-аддитивной (p=0,01) моделях наследования (рисунки 9 и 10). Ассоциация сохранила свою значимость после корректировки по

полу и возрасту (p=0,028). Среднее значение $\Delta ОФВ_1$ после пробы среди пациентов, носителей частого генотипа AA, составляло -6,2 (-11,7; -1,0)%, а среди пациентов AG и GG генотипов -3,8 (-7,1; 0,01)% (p=0,065). Каких-либо других ассоциаций с показателями ВФЛ не обнаружено.

Дополнительно выявлена взаимосвязь ОНП rs7217735 с контролем течения БА. У пациентов, носителей гомозиготного генотипа AA отмечается тенденция к ухудшению контроля над заболеванием, по сравнению с носителями AG+GG. У таких лиц наблюдались более низкие значения АСТ. Среднее значение баллов АСТ у носителей AA генотипа 17 (13,5; 21,0), а у лиц с аллелем G в генотипе – 20 (13,0; 23,0) (p=0,18) (рисунок 11). Шанс ухудшения контроля над БА в 2,46 (1,27; 4,75) раза выше у больных-гомозигот AA (p=0,007) (рисунок 12).

Рисунок 9 – Распределение генотипов ОНП rs7217735 среди обследованных лиц в зависимости от наличия или отсутствия гипоосмотической ГРДП в кодоминантной модели наследования.

Рисунок 10 – Распределение генотипов ОНП rs7217735 среди обследованных лиц в зависимости от наличия или отсутствия гипоосмотической ГРДП в доминантной модели наследования.

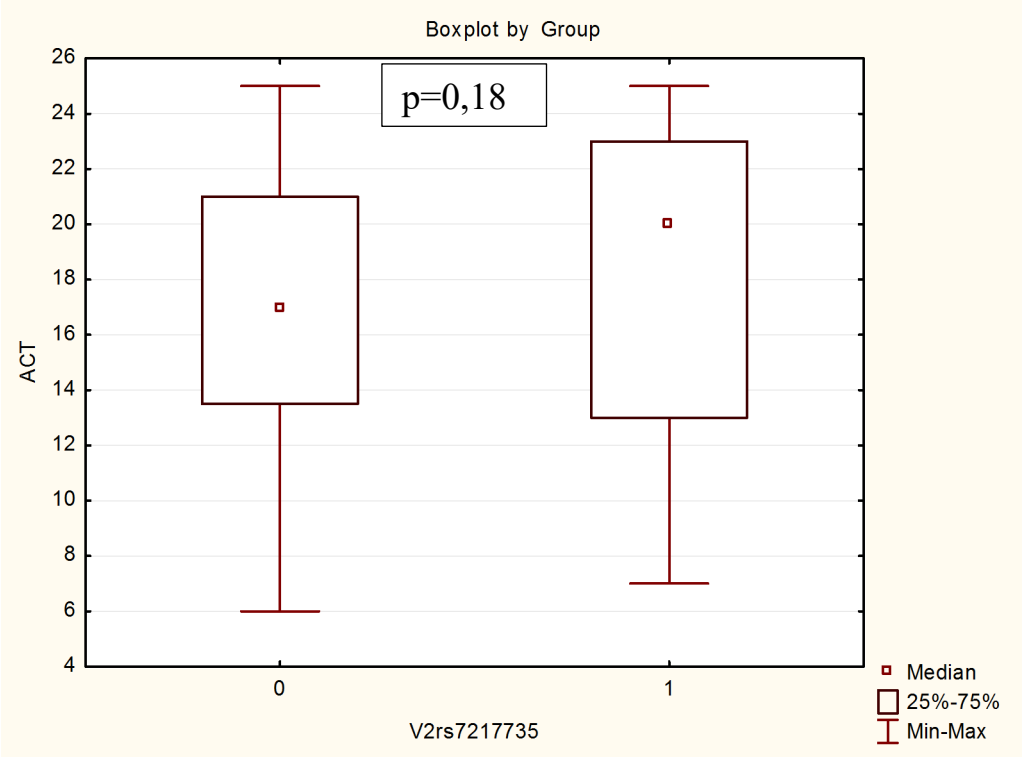


Рисунок 11 – Среднее значение баллов АСТ у больных БА с генотипом АА против AG+GG по ОНП rs7217735, Me (q1; q3), n=155 (0 – носители генотипа АА, 1 – носители AG+GG).

Рисунок 12 – Распределение пациентов в зависимости от генотипа rs7217735 и контроля над БА.

Для ОНП rs7971845 гена *TRPV4* имелась незначимая тенденция ассоциации с бронхопровокационной пробой с ИДВ (p>0,05) (рисунок 13). Данная особенность вероятнее всего связана с малым количеством случаев встречаемости мутантного G аллеля в гомозиготном состоянии среди обследуемых. На основании статистических расчетов можно сделать предположение, что генотип GG может играть протективную роль в плане формирования гипоосмотической ГРДП, однако, для подтверждения этой гипотезы требуется большая выборка пациентов с БА. Других возможных ассоциаций с данным ОНП найдено не было.

ОНП rs6606743 из 5`-фланкирующего региона *TRPV4* оказался в большей степени ассоциирован с гипоосмотической ГРДП. Наличие мутантного генотипа АА может являться фактором защиты в отношении возникновения ГРДП на

гипоосмотический стимул. Эффект АА подтвержден в рецессивной (ОШ 0,43 95%ДИ (0,19; 0,94), p=0,027) и Log-аддитивной (ОШ 0,62 95%ДИ (0,40-0,96), p=0,03) моделях (рисунки 14 и 15), в кодоминантной модели ассоциация была незначимой (p=0,053). Скорректированная по полу и возрасту значимость в рецессивной модели составила p=0,034. Вместе с тем носительство дикого аллеля G чаще встречается у лиц с положительной реакцией на бронхопровокационную пробу с ИДВ.

Рисунок 13 – Распределение генотипов ОНП rs7971845 среди обследованных лиц группы I.

Рисунок 14 – Распределение генотипов ОНП rs6606743 среди обследованных лиц группы I в кодоминантной модели наследования.

Рисунок 15 – Распределение генотипов ОНП rs6606743 среди обследованных лиц группы I в рецессивной модели наследования.

Кроме этого, у пациентов с генотипами GG и AG отмечалось более выраженное снижение всех показателей ВФЛ в ответ на пробу с ИДВ по сравнению с гомозиготами АА (рисунок 16).

Рисунок 16 – Изменение параметров ВФЛ (Δ) после пробы с ИДВ в зависимости от генотипа rs6606743.

Примечание: * - p<0,01; ** - p<0,001.

В ходе ассоциативного анализа взаимосвязи ОНП гена *TRPV1* с гипоосмотической ГРДП ни один из трех ОНП-кандидатов не продемонстрировал статистически значимых эффектов в рамках обследованной выборки пациентов

(данные не представлены). Вероятнее всего, это связано с функциональной особенностью самих рецепторов TRPV1 и их ролью в восприятии гиперосмотических, но не гипоосмотических стимулов. В связи с этим, полученный в отношении ОНП *TRPV1* результат является ожидаемым.

Таким образом, обнаружено, что CC генотип rs1129235 *TRPV2* повышает шанс развития ГРДП на гипоосмотический стимул в 3,54 раза 95%ДИ (1,55; 8,07), p=0,002. В то же время генотип GG по ОНП rs3813769 и наличие аллеля G по ОНП rs7217735 в гомо- или гетерозиготном состоянии обладают протективным действием в отношении формирования гипоосмотической ГРДП (p<0,001 и p=0,032 (ОШ 0,45 95%ДИ (0,22–0,95), соответственно).

Для гена *TRPV4* установлена ассоциация rs6606743 с бронхопровокационной пробой с ИДВ (носительство АА генотипа снижает шанс возникновения ГРДП в ответ на снижение осмотического давления в 0,43 раза (95%ДИ (0,19; 0,94), p=0,027)).

Дополнительно для ОНП из 5`-фланкирующая областей (rs7217735 и rs6606743) и 5`-нетранслируемого региона (rs3813769) генов *TRPV4* и *TRPV2* произведена оценка предполагаемой функции в программе RegulomeDB. Для всех трёх ОНП удалось установить классификацию Rank – 1f (Score для rs7217735 - 0.22271; для rs6606743 - 0.55436; для rs3813769 – 0.55436). Это свидетельствует о том, что данные ОНП являются сайтами связывания транскрипционных факторов и вовлечены в процессы регуляции экспрессии соответствующих генов. Во многом данная оценка изученных ОНП объясняет их роль в функционировании каналов TRPV2 и TRPV4 и развитии соответствующих нарушений на молекулярно-генетическом уровне, что в конечном итоге приводит к появлению клинических симптомокомплексов.

3.3. Взаимосвязь полиморфизмов *TRPV* с гиперреактивностью дыхательных путей на гиперосмотические стимулы

При статистическом анализе результатов не удалось установить взаимосвязь ГРДП в ответ на бронхопровокационную пробу с ИГР ни с одним из ОНП исследуемых генов *TRPV*. В данном аспекте, как и в отношении пробы с ДФН, наибольший интерес представляли ОНП гена *TRPV1*, кодирующего одноименный рецептор повышенного осмотического давления. Распределение частот генотипов ОНП гена *TRPV1* в исследуемой выборке представлено графически на рисунках 17, 18 и 19.

Относительно пробы с ДФН, как бронхопровокационного фактора, выступающего в качестве другого гиперосмотического стимула, прослеживалась взаимосвязь миссенс ОНП rs222747 гена *TRPV1* в гомозиготном состоянии GG с бронхоспазмом после выполнения данной пробы. В кодоминантной и рецессивной моделях наследования уровень значимости составил p=0,07 и p=0,04 (ОШ 4,07 95%ДИ (1,11; 14,88)), соответственно (рисунки 20 и 21). Ассоциация оказалась независимой от пола и возраста (скорректированное p=0,04). Для оценки влияний данных аллельных вариаций необходима более крупная выборка пациентов с успешно проведенной бронхопровокационной пробой с ДФН в связи с низкой частотой встречаемости гомозиготного варианта генотипа GG.

Рисунок 17 – Распределение генотипов ОНП rs224534 среди обследованных лиц во II группе.

Рисунок 18 – Распределение генотипов ОНП rs8065080 среди обследованных лиц во II группе.

Рисунок 19 – Распределение генотипов ОНП rs222747 среди обследованных лиц во II группе.

Рисунок 20 – Распределение генотипов ОНП rs222747 среди обследованных лиц группы III в кодоминантной модели наследования.

Рисунок 21 – Распределение генотипов ОНП rs222747 среди обследованных лиц группы III в рецессивной модели наследования.

Остальные ОНП из списка исследованных не продемонстрировали значимых ассоциаций в ответ на бронхопровокацию ДФН (данные по ОНП rs224534 и rs8065080 гена *TRPV1* представлены в виде графиков на рисунках 22 и 23, соответственно).

Рисунок 22 – Распределение генотипов ОНП rs224534 среди обследованных лиц в III группе.

Рисунок 23 – Распределение генотипов ОНП rs8065080 среди обследованных лиц в III группе.

На основании полученных результатов удалось обнаружить вероятную ассоциацию миссенс ОНП rs222747 гена *TRPV1* с развитием ГРДП в ответ на ДФН. При этом GG увеличивает шанс возникновения ГРДП при физической нагрузке в 4,07 раза (95%ДИ (1,11; 14,88), p=0,04).

3.4. Клинико-функциональные особенности бронхиальной астмы у больных с генетически детерминированной гиперреактивностью дыхательных путей

На основании результатов генетических исследований удалось установить ассоциации некоторых ОНП *TRPV* с осмотической ГРДП, уровнем контроля над БА, а также определить совокупное влияние тяжести БА и носительства определенного генотипа по ОНП гена *TRPV2*. В связи с этим проведена оценка

некоторых клинико-функциональных параметров обследованных пациентов с учетом доказанной генетически детерминированной осмотической ГРДП.

В каждой из исследуемых выборок в группах с осмотической ГРДП независимо от стимула преобладали лица, имевшие среднюю степень тяжести БА по сравнению с больными без ГРДП. Данная закономерность была статистически значимой в группах с пробами ИДВ и ИГР ($p<0,001$). Данные представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Распределение пациентов по степени тяжести БА

Клиническая группа	БА легкой степени тяжести, n (%)	БА средней степени тяжести, n (%)	Значимость
Группа Ia	20 (20,0)	80 (80,0)	$\chi^2=17,83$, $p<0,001$
Группа Ib	89 (44,9)	109 (55,1)	
Группа II a	3 (7,1)	39 (92,9)	$\chi^2=13,26$, $p<0,001$
Группа II b	37 (37,4)	62 (62,6)	
Группа III a	3 (13,6)	19 (86,4)	$\chi^2=2,70$, $p>0,05$
Группа III b	28 (31,1)	62 (68,9)	

При сравнении средних величин АСТ между подгруппами с ГРДП и без ГРДП среди пациентов II (ИГР) и III (ДФН) групп была обнаружена зависимость между ГРДП и количеством баллов ($p<0,05$), свидетельствовавшая о том, что наличие гиперосмотической ГРДП является фактором, негативно влияющим на уровень контроля БА. Но при статистическом анализе в исследуемых группах между фактическим уровнем контроля БА и наличием или отсутствием осмотической ГРДП не было выявлено взаимосвязей. Однако большой процент лиц с неконтролируемым течением БА в группах с осмотической ГРДП все же обращает на себя внимание. Средние значения АСТ, а также распределение пациентов в сравниваемых группах отражены в таблицах 16 и 17.

Установлена зависимость уровня контроля БА от степени выраженности осмотической ГРДП, описываемой амплитудой падения $ОФВ_1$ ($\Delta ОФВ_1$) в ответ на ИДВ. У пациентов с неконтролируемым течением заболевания (количество баллов АСТ <20) наблюдалось более выраженное снижение $ОФВ_1$ после бронхопровокационной пробы, чем у пациентов с полным или частичным контролем заболевания (p=0,03) (рисунок 24). Средние значения $\Delta ОФВ_1$ в сравниваемых группах по данным АСТ представлены таблице 18.

Таблица 16 – Средние значения АСТ в группах сравнения (Me (q1; q3))

Клиническая группа	Среднее значение АСТ, баллы	Значимость
Группа Ia	16,0 (12,5; 20,0)	p>0,05
Группа Ib	18,0 (13,0; 21,0)	
Группа II a	17,0 (13,0; 20,0)	p<0,05
Группа II b	20,0 (14,0; 23,0)	
Группа III a	15,5 (13,0; 20,0)	p<0,05
Группа III b	19,0 (14,0; 23,0)	

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей в сравниваемых подгруппах a и b в пределах одной группы.

Таблица 17 – Распределение пациентов по уровню контроля над БА

Клиническая группа	Контролируемая БА (АСТ – 25 баллов), n (%)	Частично контролируемая БА (АСТ – 20-24 баллов), n (%)	Неконтролируемая БА (АСТ – <20), n (%)	Значимость
Группа Ia	4 (4,6)	39 (38,6)	57 (56,8)	χ^2=5,27, p>0,05
Группа Ib	24 (12,2)	67 (33,7)	107(54,1)	
Группа II a	1 (2,4)	12 (28,6)	29 (69,0)	χ^2=5,51, p>0,05
Группа II b	12 (12,1)	39 (39,4)	48 (48,5)	
Группа III a	0 (0)	6 (28,6)	16 (71,4)	χ^2=5,81, p>0,05
Группа III b	13 (14,5)	34 (37,3)	43 (48,2)	

Примечание: n – количество пациентов, % – процентное отношение

количества пациентов к общему числу обследованных в группе, p – статистическая значимость различий в сравниваемых подгруппах a и b в пределах одной группы.

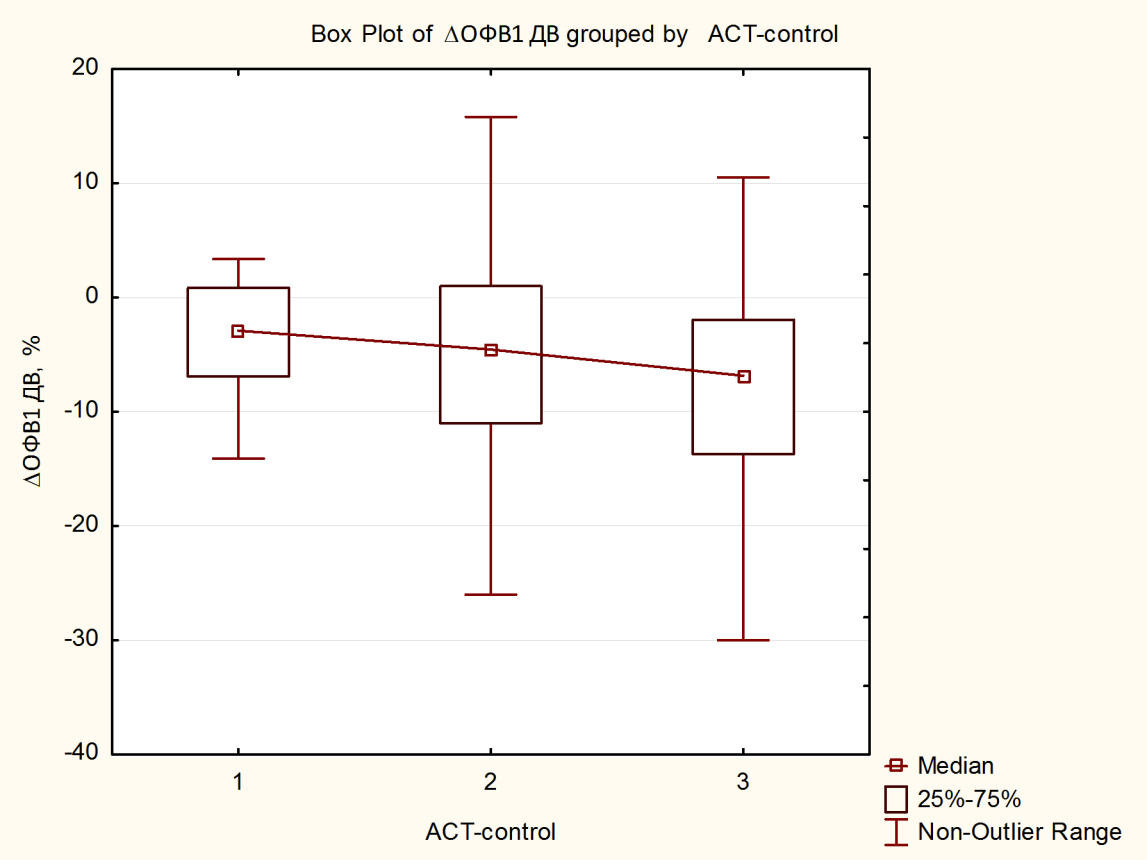


Рисунок 24 – $\Delta ОФВ_1$ после пробы с ИДВ в зависимости от уровня контроля БА (1 – полный контроль (АСТ 25 баллов), 2 – частичный контроль (АСТ 20-24 балла), 3 – отсутствие контроля (АСТ <20 баллов).

Таблица 18 – Средние значения $\Delta ОФВ_1$ после пробы с ИДВ в группах пациентов с различным уровнем контроля БА

	Контролируемая БА (АСТ 25 баллов), %	Частично контролируемая БА (АСТ 20-24 баллов), %	Неконтролируемая БА (АСТ <20), %
$\Delta ОФВ_1$	-2,9 (-6,9; 0,9)	-4,6 (-11,0; 1,0)	-6,9 (-13,7; -1,95)
Значимост	p=0,03	p=0,1	

ь	p=0,03	

Схожая ситуация выявлена и среди случаев, где изучалась гиперосмотическая ГРДП (II и III группы), однако, разница между показателями оказалась не значима (p=0,07 и p=0,08, соответственно).

Вместе с этим для групп I и III оказалась характерной прямая корреляционная зависимость между количеством баллов АСТ и степенью ГРДП, выраженной в виде амплитуды падения $ОФВ_1$ ($\Delta ОФВ_1$) в ответ на бронхопровокационную пробу (рисунки 25 и 26). Обнаружено, что, чем сильнее происходит снижение $ОФВ_1$ в ответ на бронхопровокационные пробы с ИДВ или ДФН, тем ниже уровень контроля БА пациента, то есть количество баллов АСТ меньше: коэффициенты корреляции Спирмена R=0,17 (p=0,008) и R=0,2 (p=0,04), соответственно.

При сравнении выборок a и b в отношении основных параметров ВФЛ были обнаружены следующие особенности. В I группе среди пациентов с гипоосмотической ГРДП исходные показатели спирометрии форсированного выдоха были значительно ниже, чем у пациентов с отрицательной реакцией бронхов на провокационную пробу с ИДВ. Данный факт согласуется с представленными результатами по отношению степени тяжести БА к факту наличия ГРДП. В группах II и III подобная тенденция также прослеживалась, но являлась статистически значимой лишь для отдельных показателей спирометрии. Подробная сравнительная характеристика данных параметров представлена в таблицах 19, 20 и 21.

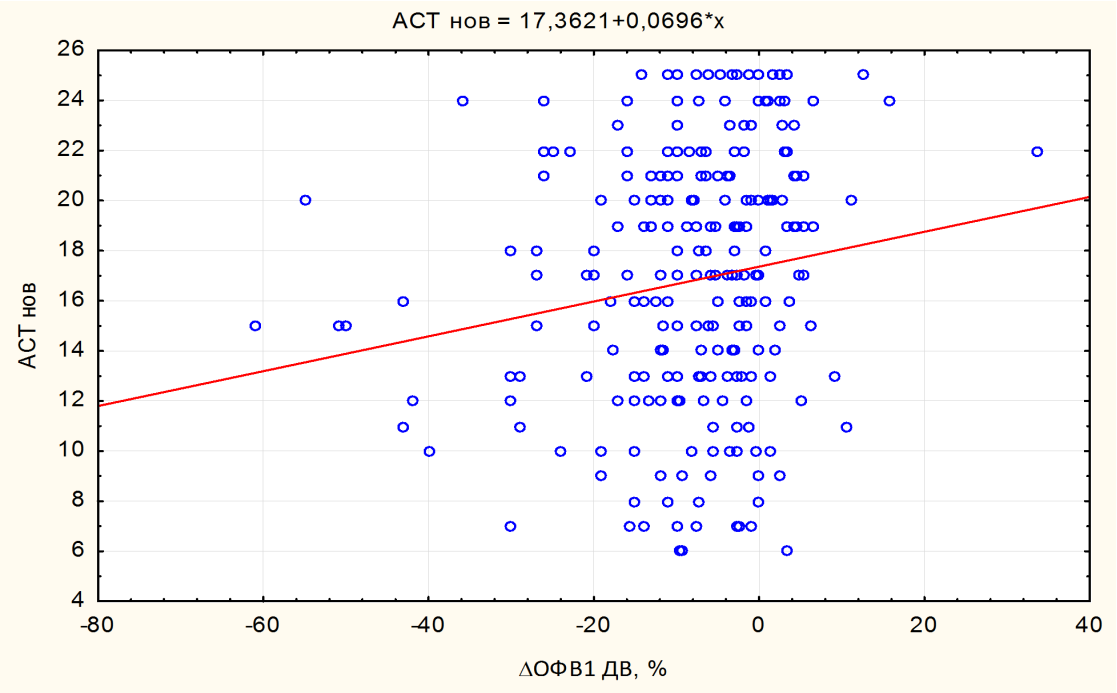


Рисунок 25 – Корреляционная зависимость между уровнем контроля БА (баллы АСТ) и степенью ГРДП в ответ на ИДВ ($\Delta ОФВ_1$).

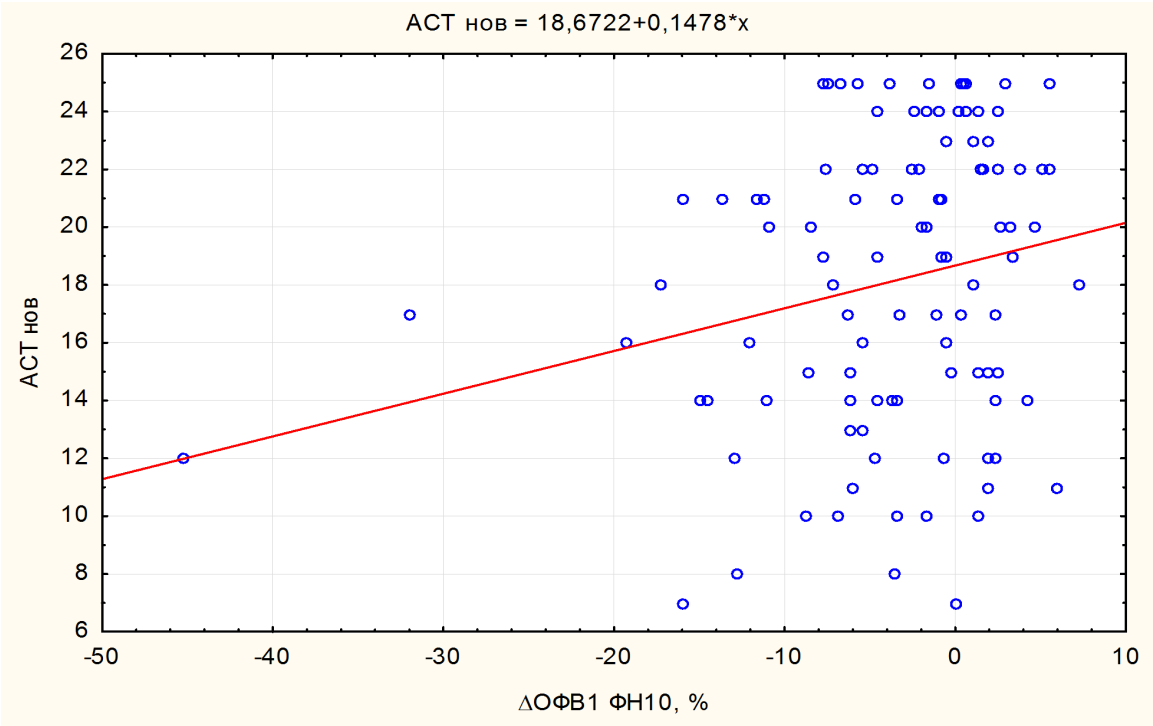


Рисунок 26 – Корреляционная зависимость между уровнем контроля БА (баллы АСТ) и степенью ГРДП в ответ на ДФН ($\Delta ОФВ_1$).

Таблица 19 – Исходные параметры ВФЛ у пациентов с наличием (подгруппа a) и отсутствием (подгруппа b) ГРДП на ИДВ (Me (q1; q3))

Показатель спирометрии	Группа I		Значимость
	Подгруппа a	Подгруппа b	
ФЖЕЛ, %	103,5 (93,0; 117,5)	105,0 (91,0; 118,0)	p>0,05
$ОФВ_1$, %	89,6 (75,8; 99,4)	97,0 (84,0; 112,0)	p<0,01
ИТ, %	85,8 (77,6; 93,1)	92,3 (86,5; 97,9)	p<0,001
ПОС, %	91,9 (74,1; 113,5)	98,0 (85,0; 115,0)	p<0,05
$МОС_{50}$, %	54,6 (40,6; 68,4)	67,7 (53,0; 93,8)	p<0,001
$МОС_{75}$, %	44,7 (31,9; 59,8)	56,8 (43,0; 78,0)	p<0,001
$СОС_{25-75}$, %	53,4 (38,8; 69,0)	65,5 (50,6; 89,5)	p<0,01

Примечание: % – процентное отношение к должной величине, p – статистическая значимость различий показателей в сравниваемых подгруппах a и b.

Таблица 20 – Исходные параметры ВФЛ у пациентов с наличием (подгруппа a) и отсутствием (подгруппа b) ГРДП на ИГР (Me (q1; q3))

Показатель спирометрии	Группа II		Значимость
	Подгруппа a	Подгруппа b	
ФЖЕЛ, %	102,5 (91,7; 117,0)	105,0 (92,9; 118,0)	p>0,05
$ОФВ_1$, %	89,3 (74,5; 103,0)	97,0 (80,0; 111,0)	p>0,05
ИТ, %	89,9 (80,5; 96,0)	92,0 (85,0; 97,9)	p=0,05
ПОС, %	90,9 (83,0; 115,0)	98,1 (85,0; 115,0)	p>0,05
$МОС_{50}$, %	57,7 (46,0; 75,0)	67,0 (50,5; 95,0)	p>0,05
$МОС_{75}$, %	48,0 (34,0; 60,4)	54,7 (40,4; 76,0)	p>0,05
$СОС_{25-75}$, %	53,4 (39,2; 65,0)	66,1 (49,2; 89,0)	p<0,01

Примечание: % – процентное отношение к должной величине, p – статистическая значимость различий показателей в сравниваемых подгруппах a и b.

Таблица 21 – Исходные параметры ВФЛ у пациентов с наличием (подгруппа a) и отсутствием (подгруппа b) ГРДП на ДФН (Me (q1; q3))

Показатель спирометрии	Группа III		Значимость
	Подгруппа a	Подгруппа b	

ФЖЕЛ, %	95,3 (89,0; 111,0)	105 (93,5; 117,0)	p>0,05
$ОФВ_1$, %	88,9 (80,0; 102,0)	94,5 (85,0; 106,0)	p>0,05
ИТ, %	91,0 (76,0; 100,0)	92,0 (84,0; 97,0)	p>0,05
ПОС, %	86,5 (72,7; 104,0)	97,5 (86,2; 114,0)	p<0,05
$МОС_{50}$, %	62,8 (47,8; 72,0)	65,7 (52,0; 86,3)	p<0,05
$МОС_{75}$, %	54,2 (35,4; 71,0)	55,5 (41,0; 70,0)	p>0,05
$СОС_{25-75}$, %	61,8 (42,7; 73,6)	62,5 (49,7; 79,2)	p>0,05

Примечание: % – процентное отношение к должной величине, p – статистическая значимость различий показателей в сравниваемых подгруппах a и b.

Аналогичным образом данные результаты соотносятся с корреляцией исходных показателей спирометрии с их изменением после пробы с ИДВ (группа I). Наблюдалась следующая тенденция, чем ниже исходные показатели ВФЛ (кроме ФЖЕЛ), тем более выраженное снижение соответствующих параметров в ответ на ингаляцию аэрозоля дистиллированной воды (таблица 22).

Таблица 22 – Корреляционная взаимосвязь исходных параметров ВФЛ с их изменениями после бронхопровокационной пробы с ИДВ

	ΔФЖЕЛ, %	$\Delta ОФВ_1$, %	ΔИТ, %	ΔПОС, %	$\Delta МОС_{50}$, %	$\Delta СОС_{25-75}$, %
ФЖЕЛ, %	R=0,15, p=0,01	R=0,06, p=0,28	R=0,01, p=0,79	R=0,04, p=0,48	R=0,09, p=0,12	R=0,09, p=0,11
$ОФВ_1$, %	R=0,22, p<0,001	R=0,19, p=0,001	R=0,11, p=0,07	R=0,17, p=0,005	R=0,2, p<0,001	R=0,2, p=0,001
ИТ, %	R=0,17, p=0,003	R=0,25, p<0,001	R=0,15, p=0,009	R=0,24, p<0,001	R=0,24, p<0,001	R=0,23, p<0,001
ПОС, %	R=0,17, p=0,003	R=0,18, p=0,002	R=0,13, p=0,02	R=0,18, p=0,002	R=0,19, p=0,001	R=0,17, p=0,004
$МОС_{50}$, %	R=0,2, p<0,001	R=0,21, p<0,001	R=0,09, p=0,11	R=0,24, p<0,001	R=0,19, p=0,001	R=0,16, p=0,008
$СОС_{25-75}$, %	R=0,22, p<0,001	R=0,22, p<0,001	R=0,13, p=0,04	R=0,21, p<0,001	R=0,2, p<0,001	R=0,19, p=0,002

Примечание: R – коэффициент ранговой корреляции Спирмена, p – статистическая значимость различий сравниваемых показателей.

В группе II прямая корреляционная связь отмечалась в отношении исходных параметров ВФЛ ($ОФВ_1$, ИТ, ПОС, $МОС_{50}$ и $СОС_{25-75}$) только с ΔФЖЕЛ и $ΔОФВ_1$ (таблица 23).

У пациентов III группы не выявлено корреляционных взаимосвязей между исходными спирометрическими показателями и их изменениями после пробы.

При анализе изменений основного критерия ГРДП – $ΔОФВ_1$ – среди пациентов выборок a и b отмечалась достоверная разница между числовыми значениями данного параметра во всех трёх группах ($p<0,001$) (рисунки 27, 28 и 29). Среднее значение $ΔОФВ_1$ в группах Ia и Ib составило -15,0 (-22,5; -11,6)% и -2,8 (-5,9; 0,7)%, соответственно. Среди пациентов с положительной пробой на ИГР (группа IIa) среднее $ΔОФВ_1$ -14,6 (-22,0; -10,7)% , а у больных без реакции на данный стимул (группа IIb) -1,7 (5,1; 1,7)%. В выборке исследования реакции дыхательных путей на ДФН установлен средний показатель $ΔОФВ_1$ в подгруппе IIIa составил -14,1 (-16,7; -11,9)%, в подгруппе IIIb – -0,95 (-4,7; 1,9)%.

Таблица 23 – Корреляционная взаимосвязь исходных параметров ВФЛ и изменений (Δ) в ответ на бронхопровокационную пробу с ИГР

	ФЖЕЛ, %	$ОФВ_1$, %	ИТ, %	ПОС, %	МОС50, %	СОС25-75, %
ΔФЖЕЛ, %	R=0,1, p=0,22	R=0,2, p=0,02	R=0,19, p=0,02	R=0,15, p=0,07	R=0,24, p=0,004	R=0,26, p=0,002
$ΔОФВ_1$, %	R=0,12, p=0,17	R=0,21, p=0,01	R=0,22, p=0,009	R=0,21, p=0,01	R=0,23, p=0,007	R=0,28, p<0,001

Примечание: R – коэффициент ранговой корреляции Спирмена, p – статистическая значимость различий сравниваемых показателей.

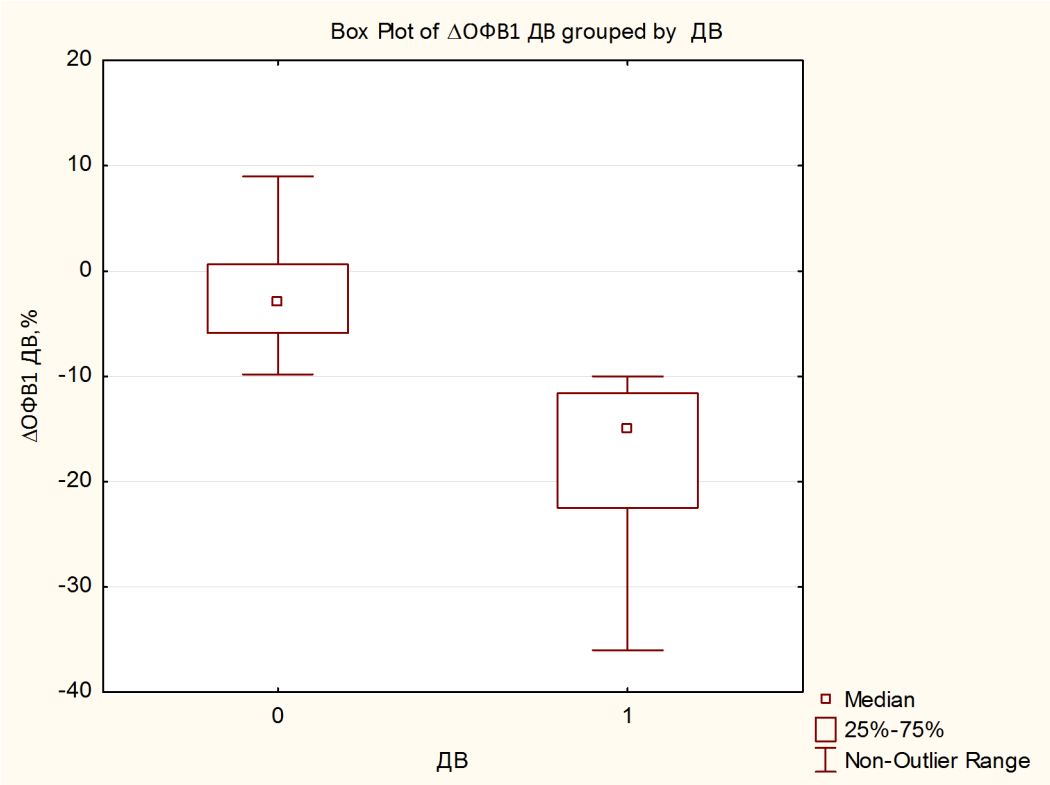


Рисунок 27 – Динамика изменения проходимости дыхательных путей ($\Delta ОФВ_1$) в ответ на пробу с ИДВ (группа I), 0 – отрицательная проба, 1 – положительная проба.

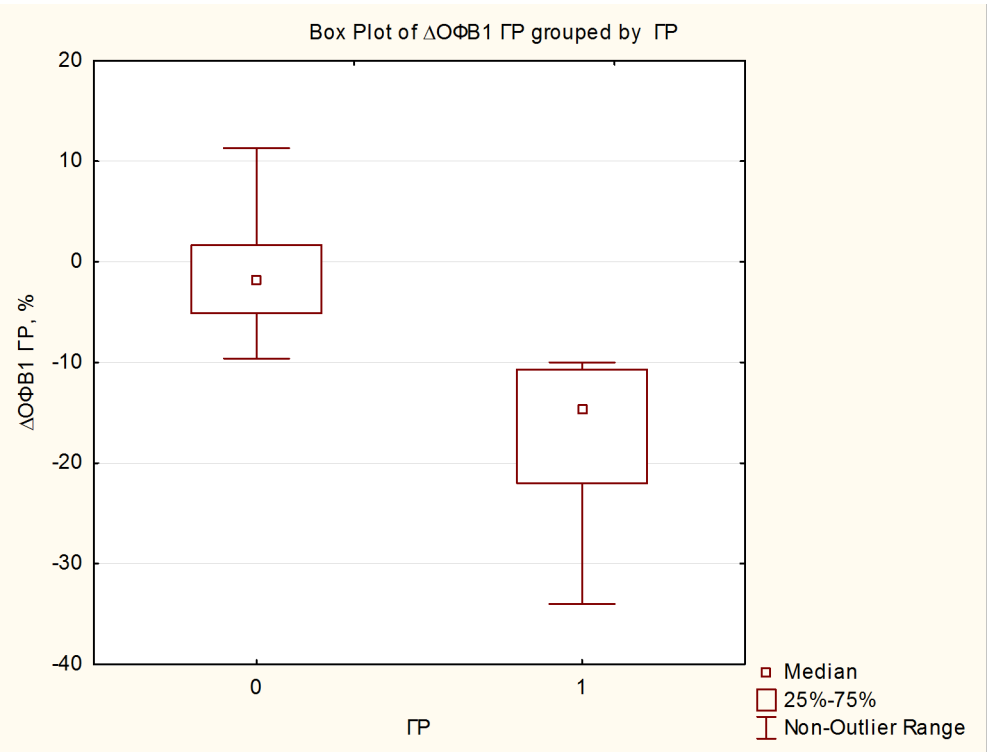


Рисунок 28 – Динамика изменения проходимости дыхательных путей ($\Delta ОФВ_1$) в ответ на пробу с ИГР (группа II), 0 – отрицательная проба, 1 – положительная

проба.

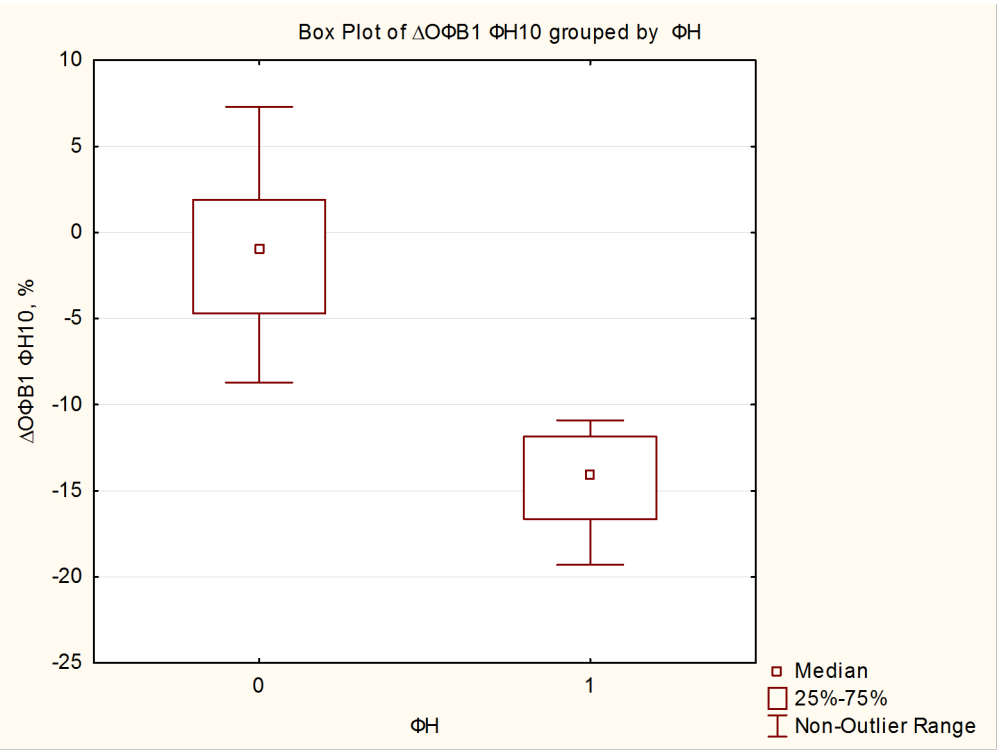


Рисунок 29 – Динамика изменения проходимости дыхательных путей ($\Delta ОФВ_1$) в ответ на пробу с ДФН (группа III), 0 – отрицательная проба, 1 – положительная проба.

В результате статистической обработки данных обнаружено, что у пациентов с БА положительная бронходилатационная проба с β_2-агонистом чаще сочеталась с положительной бронхопровокационной пробой с ИДВ (p=0,04) (рисунок 30) и ДФН (p=0,02). Полученные данные подтверждаются для гипоосмотической пробы критерием Манна-Уитни (p=0,002) и корреляционной зависимостью между степенью тяжести осмотической ГРДП в ответ на ИДВ, выраженной в изменении уровня ΔОФВ, и ответом дыхательных путей на бронхолитик (R=-0,24, p<0,001) (рисунок 31). Обратная корреляционная зависимость распространялась и на другие показатели ВФЛ (ФЖЕЛ, ИТ, ПСВ, $МОС_{50}$, $МОС_{75}$) и была также высоко значимой относительно всех параметров спирометрии (для ФЖЕЛ p=0,02, для остальных p<0,001). Это свидетельствует о том, что у пациентов с более выраженной бронходилатационной реакцией на ингаляцию β_2-агониста наблюдается более сильная обструкция бронхов при

ингаляционном воздействии гипоосмотического раствора.

Рисунок 30 – Распределение пациентов между подгруппами Ia и Ib в зависимости от ответа дыхательных путей на ингаляцию β_2-агониста.

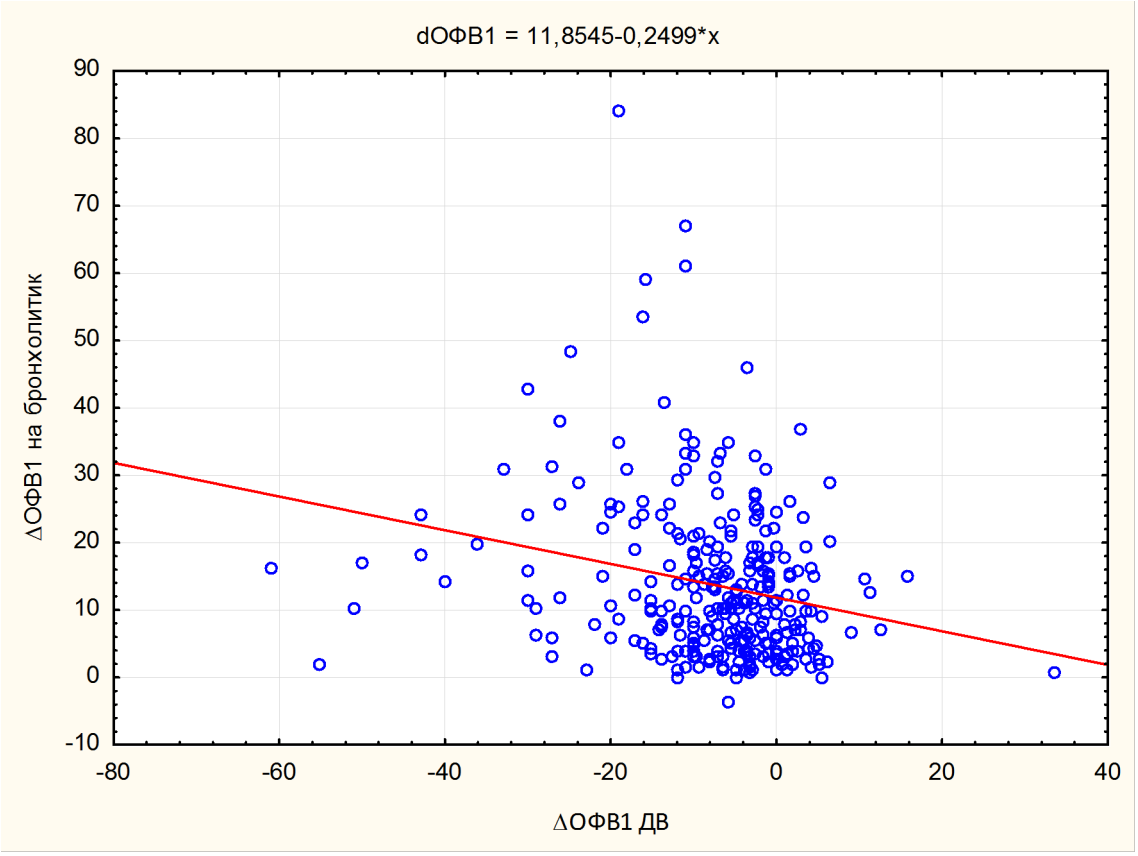


Рисунок 31 – Корреляционная зависимость между $\Delta ОФВ_1$ после пробы с ИДВ и $\Delta ОФВ_1$ после ингаляции β_2-агониста.

Для гиперосмотической пробы с ДФН также была характерна обратная корреляционная зависимость $\Delta ОФВ_1$ от бронходилатационного эффекта бронхолитического препарата (R=-0,22, p=0,02).

Таким образом, установлено, что осмотическая ГРДП у больных БА является генетически детерминированной и определяет некоторые особенности течения данного заболевания. Пациенты с бронхоспазмом в ответ на воздействие гипо- и гиперосмотических аэрозольных стимулов имеют более тяжелое течение

заболевания и демонстрируют тенденцию к более частой потере контроля над БА. Вместе с этим осмотическая ГРДП тем сильнее, чем ниже исходные скоростные показатели форсированного выдоха пациента при спирометрии. В результате исследования обнаружено, что бронхоспазм на осмотические стимулы сочетается с бронходилатационным эффектом в ответ на ингаляцию КДБА. Чем более выражено снижение показателей ВФЛ после гипо- или гиперосмотической пробы, тем выше прирост $ОФВ_1$ на КДБА. Полученные данные позволяют использовать некоторые клинико-функциональные и генетические параметры для дальнейшей разработки способов прогнозирования как осмотической ГРДП, так и уровня контроля БА.

ГЛАВА 4. ВЗАИМОСВЯЗЬ ОСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ БРОНХОВ С УРОВНЕМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *TRPV* РЕЦЕПТОРОВ НА РЕСПИРАТОРНОМ ЭПИТЕЛИИ

В эксперимент по исследованию взаимосвязи осмотической ГРДП с экспрессией генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* в назальном и бронхиальном эпителии было включено 35 пациентов с диагнозом БА легкой и средней степени тяжести, средний возраст 40,0±1,96 лет. Доля лиц женского пола преобладала и составила 65%.

Пациенты, принявшие участие в исследование по изучению особенностей экспрессии генов рецепторов TRPV, также были разделены на группы. Группу Ia составили больные БА с установленной ГРДП на бронхопровокационную пробу с ИДВ, группу Ib – без гипоосмотической реактивности бронхов, соответственно этому группа IIa – лица с ГРДП на ИГР и IIb – без ГРДП.

В 25,7% случаев среди испытуемых бронхопровокационная проба с гипоосмотическим стимулом (ИДВ) была положительной, в то время как во II группе испытуемых снижением показателя $ОФВ_1$ ниже критического порога (-10% от исходного и ниже) реагировали 48,6% больных БА. При этом содружественная положительная бронхоконстрикторная реакция на оба стимула наблюдалась у 23% пациентов всей выборки.

Для дальнейших расчетов относительных уровней экспрессии с помощью программы RefFinder из трех кандидатов на референсный ген был выбран один – *PPIA*, который продемонстрировал наибольшую стабильность как в бронхиальном, так и назальном эпителии (рисунки 32 и 33). Ген *RPLP0* в клетках респираторного эпителия экспрессировался на разных уровнях в зависимости от образца, его стабильность была хуже более, чем в два раза по сравнению с двумя другими референсными генами. *B2M* занял промежуточное положение между генами-кандидатами для нормализации таргетных генов. В дальнейшем анализ относительных уровней экспрессии генов *TRPV* рецепторов производился

непосредственно по референсному гену *PPIA*.

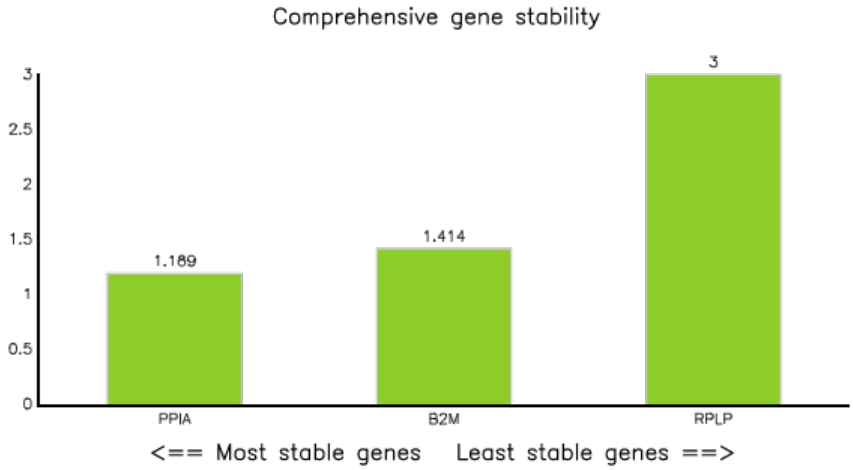


Рисунок 32 – Распределение кандидатных референсных генов в зависимости от стабильности их экспрессии в клетках назального эпителия.

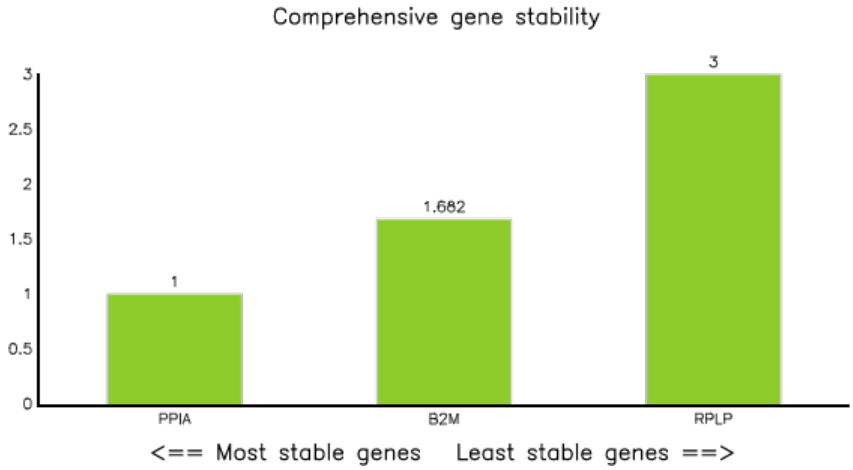


Рисунок 33 – Распределение кандидатных референсных генов в зависимости от стабильности их экспрессии в клетках бронхиального эпителия.

При сравнительном анализе не было выявлено достоверных отличий экспрессии таргетных генов *TRPV* между образцами назального и бронхиального эпителия. Несмотря на это, обнаружено, что экспрессия *TRPV4* преобладала над *TRPV1* и *TRPV2* вне зависимости от локализации – слизистая носовой полости (в 9,1 и 6,5 раз ($p=0,001$), соответственно) или бронхов (в 35,5 и 37,4 раз ($p<0,001$), соответственно). *TRPV1* и *TRPV2* экспрессировались приблизительно одинаково, статистически значимых различий между ними установлено не было.

При ассоциативном анализе уровней экспрессии таргетных генов в образцах назального эпителия с наличием или отсутствием осмотической ГРДП достоверных изменений не выявлено. Между пациентами в сравниваемых группах Ia и Ib, IIa и IIb экспрессия *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4* статистически не отличалась и была на одинаковом уровне у лиц с ГРДП на любой осмотический стимул и без ГРДП.

Другая ситуация обнаружена в браш-биоптатах эпителия бронхов. В данном случае экспрессия *TRPV1* и *TRPV2* была значительно выше у пациентов Ia и IIa групп, то есть у лиц с ГРДП как на гипоосмотический, так и на гиперосмотический стимулы по сравнению с больными без ГРДП. В Ia группе относительное количество *TRPV1* и *TRPV2* на уровне мРНК было в 7,4 95%ДИ (1,4-35,7) (p=0,004) и 18,5 95%ДИ (2,1-236,7) (p=0,014) раз больше, чем в группе Ib. *TRPV4* также имел тенденцию к повышению экспрессии, однако, это не было статистически значимым в связи с большим разбросом в 95%ДИ (2,7 95%ДИ (0,3-718,8), p=0,4) (рисунок 34).

Рисунок 34 – Уровни относительной экспрессии таргетных генов *TRPV* в бронхиальном эпителии больных БА с гипоосмотической ГРДП (группа Ia) и без ГРДП (группа Ib).
Примечание: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$; n.s. – статистически не значимо.

Данная ассоциация наблюдалась и у пациентов с ГРДП на ИГР. В группе IIa уровни экспрессии *TRPV1* и *TRPV2* были, соответственно, в 4,7 95%ДИ (1,8-11,6) (p=0,013), и 7,6 95%ДИ (1,6-38,9) (p=0,024) раз выше, чем в группе IIb. Для *TRPV4* сохранялась та же тенденция, что и в группе с пробой ИДВ, экспрессия была выше почти в 2 раза, но в связи с разнородными показателями 95%ДИ, включающими значение 1, связь с ГРДП в ответ на ИГР была незначимой (2,0 95%ДИ (0,3-10,9), p=0,1) (рисунок 35).

Рисунок 35 – Уровни относительной экспрессии таргетных генов TRPV в бронхиальном эпителии больных БА с ГРДП на ИГР (группа IIa) и без ГРДП (группа IIb).

Примечание: * - $p<0,05$; n.s. – статистически не значимо.

Дополнительно к вышеописанному, можно отметить, что для генов *TRPV1* и *TRPV2* прослеживалась взаимосвязь с исходным значением $ОФВ_1$. Учитывая показатели спирометрии до проведения бронхопровокационных проб с осмотическими стимулами, больные были разделены на две подгруппы – с $ОФВ_1$ ниже и выше 82% от должного. В образцах респираторного эпителия лиц с более низким показателем $ОФВ_1$ экспрессия *TRPV1* была в 3,2 ($p=0,05$), а *TRPV2* в 6,2 ($p=0,013$) раза выше, по сравнению с образцами от пациентов с исходным $ОФВ_1$ больше 82%.

Несмотря на то, что в респираторном эпителии отмечается гиперэкспрессия гена *TRPV4* на уровне м-РНК, полученные результаты позволяют выделять именно TRPV1 и TRPV2, как потенциальные рецепторы, вносящие вклад в патогенез осмотической ГРДП. Данные, полученные в ходе статистических расчетов, демонстрируют взаимосвязь генов изучаемых рецепторов с реакцией бронхов как на гипо-, так и на гиперосмотический стимул. Эта особенность вероятнее всего связана с большим процентом сочетанной осмотической ГРДП, присутствующей у одних и тех же лиц. То есть, практически все пациенты с бронхоконстрикторной реакцией на пробу с ИДВ реагировали и на бронхопровокацию ИГР. Учитывая тот факт, что рецепторы TRPV1 являются чувствительными к растворам с высокой осмолярностью, а TRPV2, напротив, активируются стимулами с низкой осмолярностью, можно предположить, что данные каналы способны опосредовать схожие механизмы бронхоспазма.

Еще одним интересным результатом является то, что особенности экспрессии *TRPV1* и *TRPV2* именно в бронхиальном эпителии оказались связаны с осмотической ГРДП. Вероятнее всего, это связано со структурой бронхиальной

стенки и патофизиологическими особенностями, приводящими к бронхоконстрикции. Как известно, организм человека – это сложная саморегулирующаяся система, способная самостоятельно поддерживать гомеостаз, однако, в условиях патологии, в частности, респираторного тракта при БА, изменение экспрессии данных каналов является критическим и приводит к соответствующим фенотипическим проявлениям. Также можно предположить, что рецепторы эпителиальных клеток слизистой оболочки полости носа, подвергающиеся постоянному воздействию внешних раздражителей по сравнению с эпителием средних и нижних отделов дыхательных путей, имеют более высокий порог чувствительности и меньшую значимость для процессов, происходящих в более дистальных отделах воздухоносных путей. Возможно, этим можно объяснить отсутствие разницы в экспрессии исследуемых каналов *TRPV* в браш-биоптатах назального эпителия.

ГЛАВА 5. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ГИПООСМОТИЧЕСКОЙ ГИПЕРРЕАКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ И ПОТЕРИ КОНТРОЛЯ НАД БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

5.1. Способы прогнозирования осмотической гиперреактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой при воздействии воздуха с высоким уровнем относительной влажности

С учетом найденных особенностей и закономерностей с целью прогнозирования развития ГРДП на гипоосмотический стимул у больных БА при помощи биномиальной логистической регрессии была разработана математическая модель, отражающая зависимость вероятности возникновения гипоосмотического бронхоспазма от тяжести БА, выраженности бронхолитического эффекта ($\Delta ОФВ_1$) на ингаляцию β_2-агониста (сальбутамола), а также генотипа по ОНП rs1129235 гена *TRPV2*.

Разработанное уравнение регрессии имеет вид:

F=-1,90584+1,06002×*rs1129235TRPV2*+0,06968×*dОФВ$_1$БЛ*+0,84281×*БА*

где *rs1129235TRPV2* – переменная, принимающая значение «1» – при генотипе СС по ОНП rs1129235, «0» – при генотипах АА или АС;

dОФВ$_1$БЛ– количественная переменная, отражающая изменение (Δ) показателя $ОФВ_1$ после ингаляции сальбутамола в %;

БА – переменная, отражающая степень тяжести заболевания и принимающая значение «1» – при средней тяжести, «0» – легкой тяжести.

Вычисление вероятности возникновения гипоосмотической ГРДП производится по формуле:

$$P=1/(1+e^{-F}),$$

где e – основание натурального логарифма (2,718),

F – значение, полученное вычислением по формуле.

Полученную вероятность Р соотносят с граничным значением 0,46. В случае

P>0,46 можно говорить о повышенном риске развития ГРДП на гипоосмотический стимул.

Для определения значимости составленного математического уравнения по прогнозированию гипоосмотической ГРДП, а также с целью установления оптимального значения отсечения, проведен анализ ROC-кривых. Значение площади под кривой (AUC) составил 0,74 95%ДИ (0,64; 0,82) (рисунок 36).

При выбранном пороге 0,46 дополнительно рассчитаны такие операционные характеристики, как чувствительность (68%), специфичность (68%) и точность (68%) [8]. Значения данных параметров можно оценить как приемлемые, а сам метод считать относительно эффективным.

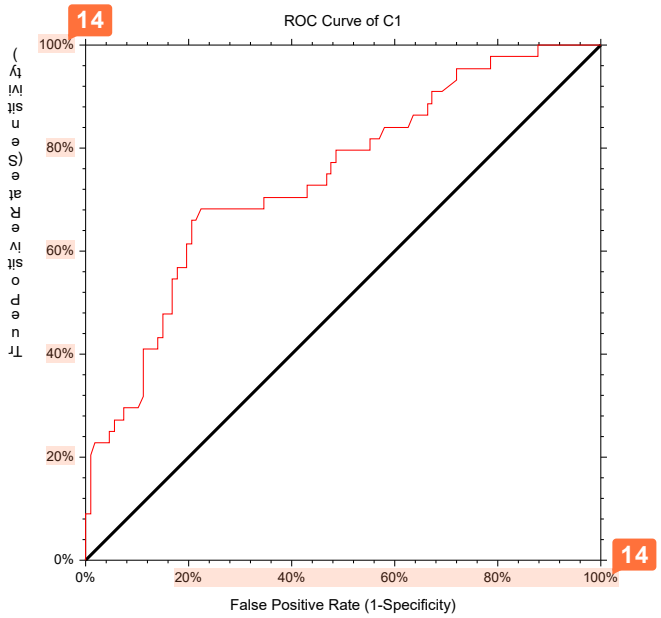


Рисунок 36 – ROC-кривая, построенная на основании математического уравнения по прогнозированию вероятности развития гипоосмотической ГРДП у больных БА в зависимости от тяжести БА, выраженности бронхолитического эффекта ($\Delta ОФВ_1$) на ингаляцию β_2-агониста (сальбутамола), а также генотипа по ОНП rs1129235 гена *TRPV2*.

Вторая математическая модель дополнительно учитывает уровень контроля БА, выраженный в количестве баллов АСТ, и демонстрирует взаимовлияние клинико-функциональных (тяжесть БА, уровень контроля БА, $\Delta ОФВ_1$ в ответ на

ингаляцию КДБА) и генетической (rs1129235 *TRPV2*) переменных.

Разработанное уравнение регрессии имеет вид:

$$F=-3{,}71022+1{,}16317\times TRPV2+0{,}07939\times dОФВ_1БЛ+0{,}89901\times БА+0{,}09494\times АСТ$$

где *TRPV2* – переменная, принимающая значение «1» – при генотипе CC по ОНП rs1129235, «0» – при генотипах AA или AC;

dОФВ$_1$БЛ – количественная переменная, отражающая изменение (Δ) показателя ОФВ$_1$ после ингаляции сальбутамола в %;

БА – переменная, отражающая степень тяжести заболевания и принимающая значение «1» – при средней тяжести, «0» – легкой,

АСТ – количество баллов АСТ-вопросника.

Вычисление вероятности возникновения гипоосмотической ГРДП производится по формуле:

$$P=1/(1+e^{-F}),$$

где *e* – основание натурального логарифма (2,718),

F – значение, полученное вычислением по формуле.

Полученную вероятность Р соотносят с граничным значением 0,53. В случае Р≥0,53 можно говорить о повышенном риске развития ГРДП на гипоосмотический стимул.

Для определения значимости составленного математического уравнения по прогнозированию гипоосмотической ГРДП, а также с целью установления оптимального значения отсечения, проведен анализ ROC-кривых. Значение площади под кривой (AUC) составил 0,74 95%ДИ (0,64; 0,82) (рисунок 37).

При выбранном пороге 0,53 дополнительно рассчитаны такие операционные характеристики, чувствительность (63%), специфичность (72%) и точность (69%). Как видно, добавление такой переменной как контроль БА способствовало некоторому увеличению специфичности и точности прогнозирования, но несколько снизило показатель чувствительности. Показатель площади под кривой данного способа прогнозирования не отличается от предыдущего, но переменная уровня контроля БА значима в уравнении, что говорит о независимой взаимосвязи между гипоосмотической ГРДП и контролем. Чувствительность/специфичность

изменяются в зависимости от граничного значения.

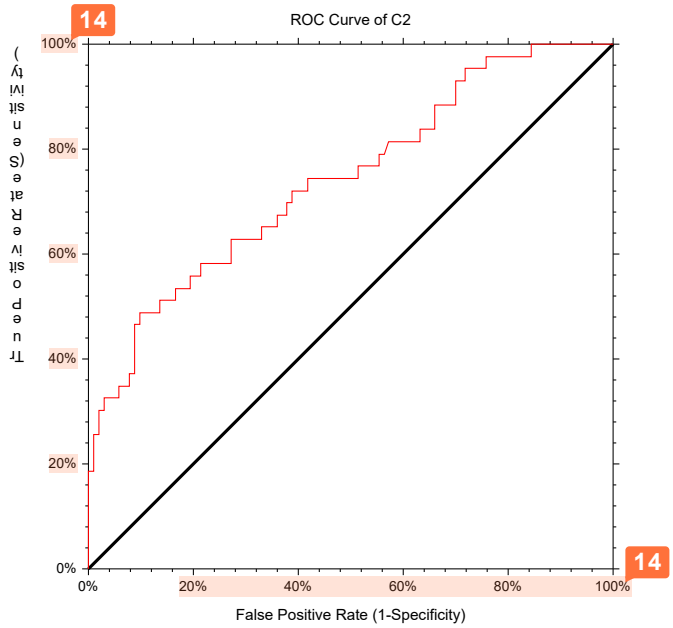


Рисунок 37 – ROC-кривая, построенная на основании математического уравнения по прогнозированию вероятности развития гипоосмотической ГРДП у больных БА в зависимости от тяжести БА, уровня контроля БА (баллы АСТ), выраженности бронхолитического эффекта ($\Delta ОФВ_1$) на ингаляцию β_2-агониста (сальбутамола), а также генотипа по ОНП rs1129235 гена *TRPV2*.

При прогнозировании гипоосмотической ГРДП также удалось установить комплексное влияние таких показателей как тяжесть БА, ИК, прирост показателя $ОФВ_1$ после ингаляции сальбутамола вместе с еще одним ОНП гена *TRPV2* – rs7217735.

Разработанное уравнение регрессии имеет вид:

$$F=-2{,}71806+0{,}05043\times dОФВ_1БЛ+0{,}90045\times БА+0{,}46678\times TRPV2-0{,}56250\times ИК$$

где $dОФВ_1БЛ$ – количественная переменная, отражающая изменение (Δ) показателя $ОФВ_1$ после ингаляции сальбутамола в %;

БА – переменная, отражающая степень тяжести заболевания и принимающая значение «1» – при средней тяжести, «0» – при легкой;

TRPV2 – переменная, принимающая значение «1» – при генотипе AA по ОНП rs7217735, «0» – при генотипе AG или GG;

ИК – переменная индекса курения, принимающая значение «1» - при ИК≥5 пачка/лет, «0» - при ИК<5 пачка/лет.

Вычисление вероятности возникновения гипоосмотической ГРДП производится по формуле:

$$P=1/(1+e^{-F}),$$

где *e* – основание натурального логарифма (2,718),

F – значение, полученное вычислением по формуле.

Полученную вероятность Р соотносят с граничным значением 0,25. В случае Р≥0,25 можно говорить о повышенном риске развития гипоосмотической ГРДП.

Для определения значимости составленной прогнозной модели, а также с целью установления оптимального значения отсечения проведен анализ ROC-кривых. Значение площади под кривой (AUC) составил 0,73 95%ДИ (0,61; 0,82) (рисунок 38).

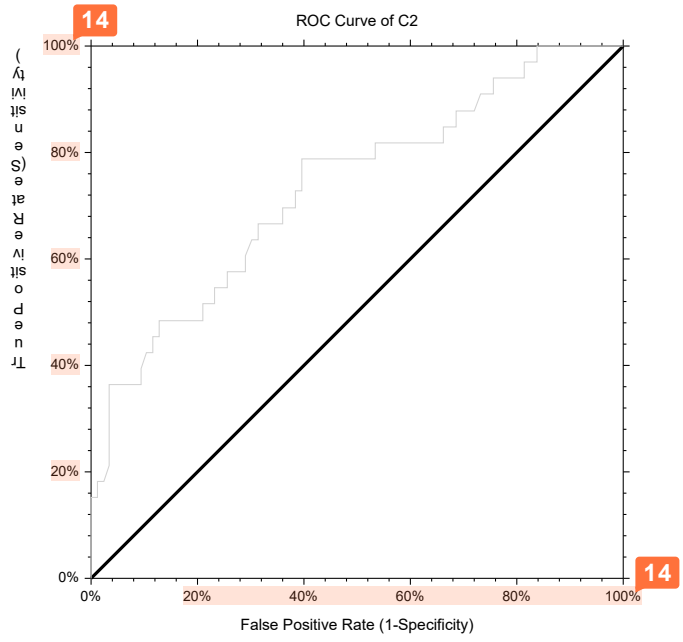


Рисунок 38 – ROC-кривая, построенная на основании математического уравнения по прогнозированию вероятности развития гипоосмотической ГРДП у больных БА в зависимости от тяжести БА, ИК, $\Delta ОФВ_1$ в ответ на ингаляцию β_2-агониста (сальбутамола), а также генотипа по ОНП rs7217735 гена *TRPV2*.

При выбранном пороге 0,25 дополнительно рассчитаны такие операционные

характеристики, чувствительность (64%), специфичность (69%) и точность (67%). Значения данных параметров можно оценить как приемлемые, а сам метод считать достаточно эффективным.

Таким образом, разработанные способы прогнозирования гипоосмотической ГРДП еще раз подчеркивают взаимосвязь таких параметров, как тяжесть течения БА, уровень контроля над заболеванием, генетические ОНП осмочувствительных каналов TRPV2 и статуса ГРДП не только в виде бронхоспазма на осмотические стимулы, но и в виде бронходилатационного эффекта после ингаляции КДБА.

Разработанные прогнозные способы имеют схожие операционные характеристики, однако преимущественным можно считать первый:

$$F=-1{,}90584+1{,}06002\times rs1129235TRPV2+0{,}06968\times dОФВ_1БЛ+0{,}84281\times БА$$

Ниже приводятся примеры использования разработанного способа прогнозирования гипоосмотической ГРДП.

Пример 1. Больная К., 32 г. Диагноз: Бронхиальная астма, смешанная форма, средней степени тяжести, неконтролируемое течение. Получаемое лечение: ИГКС в низких дозах в комбинации с ДДБА как поддерживающая терапия, КДБА по потребности. В период низкой относительной влажности воздуха (в апреле) произведено обследование: при генотипировании ОНП rs1129235 *TRPV2* выявлено носительство СС генотипа. По результатам пробы с бронхолитиком (сальбутамол, 200 мкг) установлено изменение $ОФВ_1$ ($dОФВ_1БЛ$) в виде прироста на 18% от исходного уровня. На основании разработанного математического уравнения произведен расчет прогнозирования гипоосмотической ГРДП:

$$F=-1{,}90584+1{,}06002\times rs1129235TRPV2+0{,}06968\times dОФВ_1БЛ+0{,}84281\times БА=$$
$$-1{,}90584+1{,}06002\times 1+0{,}06968\times 18+0{,}84281\times 1=1{,}25;$$

$$P=1/(1+e^{-F})=1/(1+2{,}718^{-1{,}25})=0{,}77$$

Полученная вероятность Р больше граничного значения 0,46. В связи с этим, можно говорить о наличии у пациентки повышенного риска развития ГРДП на гипоосмотический стимул, что свидетельствует о возможном возникновении явления ГРДП в период высокой относительной влажности атмосферного воздуха. Во время динамического наблюдения больной, в период высокой влажности

атмосферного воздуха (июнь-июль) обнаружено клиническое ухудшение состояния больной, появление жалоб на более частые приступы удушья, возникновение свистящих хрипов. Для профилактики обострений БА в сезоны с высокой относительной влажностью воздуха больной рекомендовано: применение комбинации ИГКС в средних дозах и ДДБА, а также использование комбинированных ингаляторов ИГКС беклометазон/формотерол или будесонид/формотерол в режиме «по потребности».

Пример 2. Больной С., 44 г. Диагноз: Бронхиальная астма, аллергическая форма, легкое контролируемое течение. Получаемое лечение: ИГКС в низких дозах, КДБА в режиме «по потребности». В результате генотипирования по ОНП rs1129235 *TRPV2* выявлено носительство АА генотипа. При проведении пробы с бронхолитиком (сальбутамол, 200 мкг) установлено изменение $ОФВ_1$ ($dОФВ_1БЛ$) в виде прироста на 10% от исходного уровня. На основании разработанного математического уравнения произведен расчет:

F=-1,90584+1,06002×$rs1129235TRPV2$+0,06968×$dОФВ_1БЛ$+0,84281×$БА$= -1,90584+1,06002×0+0,06968×10+0,84281×0=-1,21;

$P=1/(1+e^{-F})$=1/(1+2,718$^{-(-1,21)}$)=0,23

Полученная вероятность Р меньше граничного значения 0,46. В связи с этим, можно говорить об отсутствии у пациента риска развития гипоосмотической ГРДП. Учитывая контролируемое течение БА и отсутствие жалоб, получаемую терапию рекомендовано продолжить.

5.2. Прогнозирование риска неконтролируемого течения бронхиальной астмы в период повышенной относительной влажности атмосферного воздуха

На основании проведенного анализа были получены данные о взаимосвязи осмотической ГРДП с уровнем контроля БА. Было установлено, что пациенты с гипо- или гиперосмотической ГРДП чаще имеют неконтролируемое течение заболевания. Кроме этого, для гипоосмотической ГРДП обнаружено, что чем

сильнее у пациента бронхоспазм в ответ на ИДВ, выраженный в $\Delta ОФВ_1$, тем ниже количество баллов АСТ, соответственно, хуже контроль БА. Дополнительно ГРДП на гипоосмотический стимул характеризуется более тяжелым течением БА. В ходе статистических расчетов была установлена генетическая составляющая как самой гипоосмотической ГРДП, так и неконтролируемого течения заболевания. В качестве такого предиктора выступил ОНП rs7217735 *TRPV2*. Носительство генотипа АА приводит не только к развитию ГРДП на гипоосмотический стимул, но и предопределяет более плохой контроль БА.

Таким образом, в результате исследования определены три переменные, оказывающие влияние на уровень контроля над БА – это тяжесть заболевания, наличие генотипа АА по ОНП rs7217735 *TRPV2*, а также степень гипоосмотической ГРДП, выраженная в снижении $ОФВ_1$ ($\Delta ОФВ_1$, %) после пробы с ИДВ. Методом биномиальной логистической регрессии установлено взаимовлияние указанных параметров на уровень контроля БА и определены коэффициенты для вышеуказанных переменных.

Разработанное прогностическое уравнение получило вид:

$$F=-0{,}627725+1{,}091917\times тяжесть\ БА+0{,}764803\times rs7217735-0{,}164064\times \Delta ОФВ_1,$$

где *тяжесть БА* – переменная, отражающая степень тяжести БА и принимающая значение «1» – при средней тяжести, «0» – при легкой;

rs7217735 – переменная, принимающая значение «1» – при генотипе АА по ОНП rs7217735 гена *TRPV2*, «0» – при генотипе AG или GG;

$\Delta ОФВ_1$ – количественная переменная, отражающая изменение (Δ) $ОФВ_1$ после бронхопровокационной пробы с ИДВ в %.

Вычисление вероятности возникновения риска потери контроля над БА производится по формуле:

$$P=1/(1+e^{-F}),$$

где e – основание натурального логарифма (2,718),

F – значение, полученное вычислением по формуле.

Для полученной вероятности Р определено граничное значение, равное 0,77. В случае, если Р больше 0,77, риск потери контроля над БА считается высоким,

если меньше 0,77 – риск возникновения неконтролируемого течения БА при повышении влажности атмосферного воздуха – низкий.

Для определения значимости составленной прогнозной модели, а также с целью установления оптимального значения отсечения проведен анализ ROC-кривых. Значение площади под кривой (AUC) составило 0,87 95%ДИ (0,80; 0,92) (рис. 39).

Чувствительность способа равна 80%, специфичность 79,2%, точность 80%. Значения вычисленных параметров можно оценить, как приемлемые, а сам метод считать относительно эффективным.

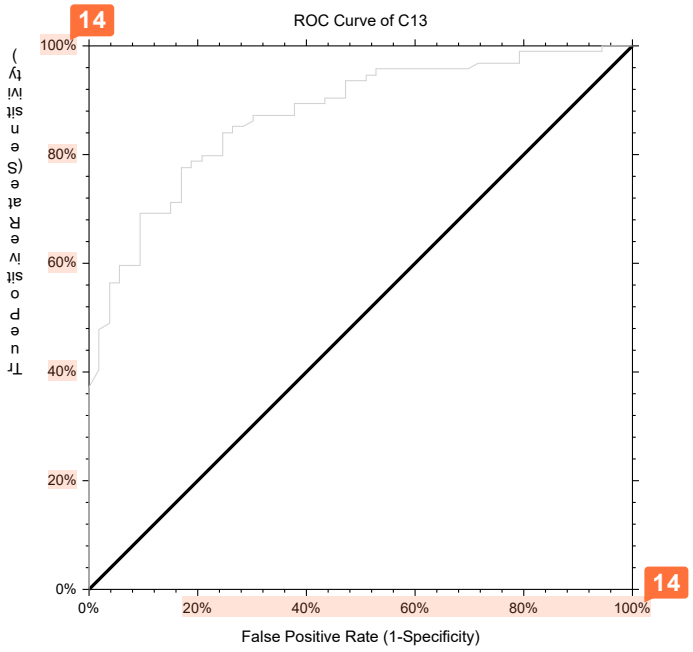


Рисунок 39 – ROC-кривая, построенная на основании математического уравнения по прогнозированию риска неконтролируемого течения БА в зависимости от степени тяжести БА, генотипа по ОНП rs7217735 гена *TRPV2*, а также выраженности ΔОФВ1 после бронхопровокационной пробы с ИДВ.

Ниже приводятся примеры использования разработанного способа прогнозирования уровня контроля БА в период высокой относительной влажности атмосферного воздуха.

Пример 1. Больной В., 46 л. Диагноз: Бронхиальная астма, смешанная

форма, средней степени тяжести, неконтролируемое течение. Получаемое лечение: ИГКС в низких дозах в комбинации с ДДБА как поддерживающая терапия, КДБА «по потребности». В «сухой» сезон года проведено дополнительное обследование: в результате генотипирования по ОНП rs7217735 *TRPV2* выявлено носительство АА генотипа; при проведении бронхопровокационной пробы с ИДВ обнаружено снижение $ОФВ_1$ ($\Delta ОФВ_1$) на 15% от исходного. На основании разработанного способа прогнозирования уровня контроля БА произведен расчет:

F=-0,627725+1,091917×*тяжесть БА*+0,764803×*rs7217735*-0,164064×$\Delta ОФВ_1$ =-0,627725+1,091917×*1*+0,764803×*1*-0,164064×*(-15)*=3,69;

$P=1/(1+e^{-F})$=1/(1+2,718$^{-3,69}$)=0,98

Полученная вероятность Р больше 0,77. В связи с этим, можно говорить о наличии у пациента высокого риска потери контроля над БА в период высокой относительной влажности атмосферного воздуха. В связи с этим больному рекомендовано наблюдение у пульмонолога в сезоны высокой влажности и усиление базисной терапии: применение комбинации ИГКС в средних дозах в комбинации с ДДБА, а также использование комбинированных ингаляторов ИГКС беклометазон/формотерол или будесонид/формотерол в режиме «по потребности».

Пример 2. Больной Л., 28 л. Диагноз: Бронхиальная астма, аллергическая форма, легкое контролируемое течение. Получаемое лечение: ИГКС в низких дозах, КДБА в режиме «по потребности». В результате генотипирования по ОНП rs7217735 *TRPV2* выявлено носительство GG генотипа. При проведении бронхопровокационной пробы с ИДВ обнаружено снижение $ОФВ_1$ ($\Delta ОФВ_1$) на 4,5% от исходного. На основании разработанного математического уравнения произведен расчет вероятности потери контроля над БА в период повышенной относительной влажности воздуха:

F=-0,627725+1,091917×*тяжесть БА*+0,764803×*rs7217735*-0,164064×$\Delta ОФВ_1$ =-0,627725+1,091917×*0*+0,764803×*0*-0,164064×*(-4,5)*=0,11;

$P=1/(1+e^{-F})$=1/(1+2,718$^{-0,11}$)=0,53

Полученная вероятность Р меньше граничного значения 0,77. В связи с этим можно говорить об отсутствии у пациента риска потери контроля над БА в сезоны повышенной относительной влажности атмосферного воздуха. Учитывая контролируемое течение БА и отсутствие жалоб, получаемую терапию считать достаточной и рекомендованной к приему.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Осмотическая ГРДП является достаточно распространенным явлением среди пациентов, страдающих БА, и может оказывать существенное влияние на течение болезни. Особенно остро данная проблема возникает в случаях воздействия атмосферного воздуха чрезмерно высокой или низкой влажности, а также при физической нагрузке. Возникающие на фоне этого клинические проявления ГРДП способны ухудшать качество жизни пациентов, приводя к потере контроля и обострениям заболевания [1,11,13]. Несмотря на имеющиеся в литературе данные, патофизиологические механизмы возникновения данного процесса до конца не изучены.

На сегодняшний день в рамках исследования патогенеза обструктивных заболеваний легких, таких как БА и ХОБЛ, уделяется большое внимание рецепторам TRPV, выступающим в качестве сенсоров не только температурных, механических и химических стимулов, но и реагирующим на изменение осмотического давления. Работы, направленные на поиск взаимосвязи данных катионных каналов с ГРДП на осмотические стимулы, являются весьма важными, поскольку раскрытие механизмов формирования бронхоконстрикторных реакций позволит персонифицировать подходы в области профилактики, прогнозирования течения и лечения заболевания.

Количество пациентов, включенных в настоящее исследование, а также качественно собранные данные позволили продемонстрировать важные клинико-функциональные и генетические особенности формирования ГРДП на осмотические стимулы, как проявление одного из ярких фенотипов БА, а также установить предикторы потери контроля над заболеванием.

При проведении данной научной работы была поставлена цель изучить влияние генов *TRPV* рецепторов на осмотическую ГРДП у больных БА, а также разработать прогнозные модели клинического течения БА и формирования ГРДП в ответ на воздействие осмотических стимулов с учетом найденных генетических особенностей. На основании изложенных в диссертации результатов можно

сказать, что формирование осмотической ГРДП во многом определяется воздействием генов *TRPV1*, *TRPV2* и *TRPV4*, кодирующих соответствующие рецепторы, чувствительные к изменениям осмотического давления.

Учитывая малочисленные данные о функциях TRPV2 рецепторов в респираторном тракте, и особенно их генетической составляющей, полученные результаты вносят существенный вклад в расширение представлений об их роли в организме человека. Установлено, что CC генотип ОНП rs1129235 *TRPV2* благоприятствует развитию ГРДП в ответ на снижение осмотического давления. При этом шанс развития гипоосмотической ГРДП увеличивается в 3,54 раза (p=0,002). Мутантные аллельные варианты rs7217735 (генотип GG) и rs3813769 (наличие аллеля G в гомо- или гетерозиготном состоянии), наоборот, обладают защитными свойствами в отношении возникновения гипоосмотически индуцированного бронхоспазма (p<0,001 и p=0,032 (ОШ 0,45 95%ДИ (0,22–0,95), соответственно). Подтверждена взаимосвязь АА генотипа ОНП rs6606743 *TRPV4* с бронхопровокационной пробой с ИДВ. Носительство данного аллельного варианта приводит к снижению шанса возникновения ГРДП в ответ на снижение осмотического давления в 0,43 раза (95%ДИ (0,19; 0,94), p=0,027). Следует отметить, что обнаруженные ассоциации со всеми ОНП сохраняли свою значимость независимо от пола и возраста.

Полученные данные в отношении *TRPV2* и *TRPV4* согласуются с установленной чувствительностью данных ионных каналов к более низкому осмотическому давлению. Результаты настоящей научной работы в отношении ОНП rs6606743 *TRPV4* дополняют ранее полученные данные [3]. В предыдущем исследовании была продемонстрирована взаимосвязь данного ОНП с уровнем воспаления в дыхательных путях [223]. При этом аллель G превалировал у пациентов с более высоким уровнем нейтрофилов и эозинофилов в индуцированной мокроте, в то время как аллель A чаще встречался у пациентов с высоким процентом макрофагов. Также аллель G ассоциировался с повышенным уровнем внутриклеточной миелопероксидазы. Кроме этого, данный ОНП продемонстрировал тенденцию к ассоциации с более выраженным изменением

клинических и функциональных параметров у больных БА при воздействии влажного атмосферного воздуха [109].

Дополнительный анализ прогнозируемой функции ОНП в программе RegulomeDB определил rs7217735, rs3813769 гена *TRPV2* и rs6606743 гена *TRPV4* как сайты связывания транскрипционных факторов, способные участвовать в процессах регуляции экспрессии соответствующих генов. Эти результаты могут объяснить особенности функционирования каналов TRPV2 и TRPV4, в результате которых происходят нарушения на молекулярно-генетическом уровне, что в конечном итоге приводит к появлению клинических симптомокомплексов.

В отношении гиперосмотической ГРДП не было выявлено взаимосвязей с изучаемыми генами, в частности с потенциальным кандидатом *TRPV1*, как каналом, активирующимся высокой осмолярностью. Несмотря на это, один из миссенс ОНП *TRPV1* – rs222747 всё-таки может быть связан с развитием ГРДП на ДФН. GG генотип чаще встречается у лиц с бронхоспазмом после выполнения соответствующей пробы. Однако значимость ассоциации подтвердилась лишь в рецессивной модели наследования p=0,04. Для оценки влияний данной аллельной вариации необходима более крупная выборка пациентов с успешно проведенной бронхопровокационной пробой с ДФН в связи с низкой частотой встречаемости гомозиготного варианта генотипа GG.

Согласно данным мировой литературы, уровень экспрессии рецепторов TRPV1 в респираторном эпителии выше не только у астматиков по сравнению со здоровыми, но и с увеличением степени тяжести заболевания. Настоящее исследование дополнительно показало, что увеличение экспрессии м-РНК *TRPV2* наряду с экспрессией *TRPV1* предрасполагает к возникновению осмотической ГРДП. Несмотря на то, что в респираторном эпителии отмечается гиперэкспрессия гена *TRPV4* на уровне м-РНК, полученные результаты позволяют выделять именно особенности экспрессии *TRPV1* и *TRPV2*, вносящие вклад в патогенез осмотической ГРДП за счет реализации эффекта ген-мРНК-белок. Данные, полученные в ходе статистических расчетов, демонстрируют взаимосвязь генов изучаемых рецепторов с реакцией бронхов как на гипо-, так и на

гиперосмотический стимул. Эта особенность вероятнее всего связана с большим процентом сочетанной осмотической ГРДП, присутствующей у одних и тех же лиц. То есть, практически все пациенты с бронхоконстрикторной реакцией на пробу с ИДВ реагировали и на бронхопровокацию ИГР. Учитывая тот факт, что рецепторы TRPV1 являются чувствительными к растворам с высокой осмолярностью, а TRPV2, напротив, активируются стимулами с низкой осмолярностью, можно предположить, что данные каналы способны опосредовать схожие механизмы бронхоспазма.

Еще одним интересным результатом является то, что особенности экспрессии *TRPV1* и *TRPV2* именно в бронхиальном эпителии оказались связаны с осмотической ГРДП. Вероятнее всего, это связано со структурой бронхиальной стенки и патофизиологическими особенностями, приводящими к бронхоконстрикции. Как известно, организм человека – это сложная саморегулирующаяся система, способная самостоятельно поддерживать гомеостаз, однако, в условиях патологии, в частности, респираторного тракта при БА, изменение экспрессии данных каналов является критическим и приводит к соответствующим фенотипическим проявлениям. Также можно предположить, что рецепторы эпителиальных клеток слизистой оболочки полости носа, подвергающиеся постоянному воздействию внешних раздражителей по сравнению с эпителием средних и нижних отделов дыхательных путей, имеют более высокий порог чувствительности и меньшую значимость для процессов, происходящих в более дистальных отделах воздухоносных путей. Возможно, этим можно объяснить отсутствие разницы в экспрессии исследуемых каналов *TRPV* в браш-биоптатах назального эпителия.

Как уже было сказано выше, на особенности экспрессии генов могут влиять ОНП, тем самым опосредуя патологические эффекты работы соответствующих каналов. Для *TRPV2* в данном аспекте существенные данные получены для rs7217735 и rs3813769. Более детальные взаимосвязи и молекулярные механизмы данных взаимодействий еще предстоит установить. Но очевидным остается факт, что пациенты с гиперэкспрессией *TRPV1* и *TRPV2* более чувствительны к

воздействию осмотических стимулов.

Таким образом, установлено, что осмотическая ГРДП у больных БА является генетически детерминированной и определяет некоторые особенности течения данного заболевания. Пациенты с бронхоспазмом в ответ на воздействие гипо- и гиперосмотических аэрозольных стимулов имеют более тяжелое течение заболевания и демонстрируют тенденцию к более частой потере контроля над БА.

Было установлено, что пациенты с гипо- или гиперосмотической ГРДП чаще имеют неконтролируемое течение заболевания. Кроме этого, для гипоосмотической ГРДП обнаружено, что чем сильнее у пациента бронхоспазм в ответ на ИДВ, выраженный в $\Delta ОФВ_1$, тем ниже количество баллов АСТ, соответственно, хуже контроль БА. В результате исследования выявлен независимый предиктор потери контроля над БА, которым является ОНП rs7217735 *TRPV2*. Носительство генотипа АА приводит не только к развитию ГРДП на гипоосмотический стимул, но и предопределяет неконтролируемое течение БА.

Как уже было сказано, ГРДП на гипоосмотический стимул характеризуется более тяжелым течением БА и чаще встречается у лиц со средней БА, чем с легкой. Вместе с этим наблюдалось, что осмотическая ГРДП чаще встречается у пациентов с более низкими исходными скоростными показателями форсированного выдоха при спирометрии, что дополнительно подтверждается корреляционными взаимосвязями.

В результате исследования также обнаружено, что бронхоспазм на осмотические стимулы сочетается с бронходилатационным эффектом в ответ на ингаляцию КДБА. Чем более выражено снижение показателей ВФЛ после гипо- или гиперосмотической пробы, тем выше прирост $ОФВ_1$ на КДБА.

Курение, как один из факторов, усугубляющих течение БА, в данном исследовании подтвердил свое влияние на тяжесть заболевания. У лиц с ИК≥5 пачка/лет чаще всего встречался диагноз БА средней степени тяжести. Вероятнее всего за счет формирования воспалительного звена в дыхательных путях, курение сигарет может модулировать ГРДП. Кроме того, существуют работы,

доказывающие непосредственное влияние на различные процессы в респираторном тракте через рецепторы TRPV1 и TRPV2, приводя к бронхоконстрикторным реакциям и ремоделированию. Таким, образом чрезмерная активация рецепторов TRPV компонентами сигаретного дыма вероятнее всего способствует усугублению явления осмотической ГРДП, тем самым провоцируя появление клинических симптомов у пациентов с БА.

С учетом полученных данных разработаны три способа прогнозирования гипоосмотического бронхоспазма, исходя из индивидуальных особенностей пациентов, страдающих БА. В основу наиболее преимущественной технологии положены – тяжесть БА, выраженность бронхолитического эффекта ($\Delta ОФВ_1$) на ингаляцию β_2-агониста (сальбутамола), а также генотип ОНП rs1129235 гена *TRPV2*. Данный способ имеет приемлемые операционные характеристики (чувствительность (68%), специфичность (68%) и точность (68%) и может считаться относительно эффективным и использовать в клинической практике.

В результате исследования также определены три переменные, оказывающие влияние на уровень контроля над БА – это тяжесть заболевания, наличие генотипа АА по ОНП rs7217735 *TRPV2*, а также степень гипоосмотической ГРДП, выраженная в снижении $ОФВ_1$ ($\Delta ОФВ_1$, %) после пробы с ИДВ, на основании которых разработан способ прогнозирования потери контроля над БА. Чувствительность способа составила 80%, специфичность – 79,2%, точность – 80%. На основании полученных операционных характеристик сам метод можно считать относительно эффективным для использования в диагностических целях в практическом здравоохранении. Это позволит врачу лучшим образом находить подход к лечению и профилактике у пациентов, страдающих БА, с учетом его индивидуальных генетических и клинико-функциональных особенностей.

Дальнейшие исследования, направленные на изучение места осмотической ГРДП в рамках фенотипического проявления БА, должны осуществляться на основании полученных результатов о влиянии генов *TRPV*. Учитывая недостаточно достоверные взаимосвязи изученных генетических вариаций с

гиперосмотической ГРДП, требуется расширить поиск возможных ОНП-кандидатов преимущественно именно гена *TRPV1*. На основании данных литературы и результатов, полученных в ходе данной работы, можно судить о вовлеченности рецепторов TRPV, а также их генетических особенностей, в такие процессы, как воспаление, ГРДП, секреция, и ремоделирование дыхательных путей, неразрывно связанных с формированием БА и ее фенотипическими проявлениями. Это требует более детальной расшифровки молекулярных механизмов, положенных в основу реализации цепи ген *TRPV* – осмотическая ГРДП – тяжесть и контроль течения БА.

Большое количество обследованных пациентов с неконтролируемым течением заболевания (54,7%) возможно объяснить недостаточной приверженностью лечению или неправильной техникой применения ингаляционных препаратов. По данным исследования рекомендации лечащего врача соблюдали 62% больных БА. Данная цифра согласуется с другими исследованиями, по которым приверженность терапии составляет от 30 до 70% [7]. Другим вариантом может быть ухудшение контроля на фоне явления холодовой или осмотической ГРДП и низкой эффективностью стандартной ИГКС терапией у пациентов. Существующие исследования демонстрируют, что в некоторых экспериментальных моделях на изолированных дыхательных путях человека, при индукции бронхоконстрикции ИЛ-13 и ИЛ-4 развивается ГРДП, не купирующаяся глюкокортикоидами, но эффективно блокирующаяся дупилумабом (рекомбинантные человеческие антитела (IgG4), блокирующие передачу сигналов ИЛ-4 и ИЛ-13) [100]. Имеет смысл рассматривать другие подходы к лечению пациентов с БА, имеющих выраженную реакцию дыхательных путей на воздействие осмотических стимулов, с учетом опосредования данного явления рецепторами TRPV. В данном аспекте также представляет интерес изучение воздействия антилейкотриеновых препаратов. Это связано с возможной прикладной точкой воздействия на сигнальные пути, опосредующие активацию рецепторов TRPV.

С учетом накопленных данных о рецепторах ваниллоидного подсемейства

TRP и их вкладе в формирование патологий респираторного тракта, можно сказать, что направление изучения данных каналов с применением фармакологических препаратов является перспективным. Существуют исследования с использованием антагонистов TRPV1 для лечения кашля. Например, SB705498 и XEN-D0501 в экспериментах *in vivo* продемонстрировали противокашлевый эффект, а также способность уменьшать нейрогенное воспаление [229,234]. Однако наличие негативных побочных эффектов при использовании данных соединений ограничивает их применение и требует дополнительного проведения экспериментов. В отношении TRPV2 рецепторов большой интерес представляет селективный ингибитор – траниласт. В экспериментальных моделях данное химическое соединение широко исследуется в качестве потенциального лекарственного препарата аллергических состояний за счет воздействия на тучные клетки и противофибротического средства при ремоделировании дыхательных путей с участием TGFβ [59, 68,208]. Для TRPV4 широко исследуемыми соединениями являются GSK1016790A, выступающий в качестве сильного селективного агониста [205], и GSK2798745, высокоэффективный селективный антагонист данных рецепторов [35]. В рамках таргетных респираторных эффектов воздействия данных веществ необходимы дополнительные эксперименты *in vitro* и *in vivo*, для установления сигнальных механизмов, а также профиля безопасности и эффективности.

Как известно, характерным для воздействия климатических факторов в условиях как континентального, так и муссонного климата является сезонность [10,31]. Устойчивые сезонные изменения влажности воздуха существенно модулируют действие осмотического триггера на дыхательные пути, приводя к формированию характерных особенностей течения БА у лиц с осмотической ГРДП, проявляющихся развитием обострений и потери контроля болезни в сезоны с повышенной влажностью воздуха [16,29,30,33]. Верификация установленных в настоящем исследовании генетических детерминант осмотической ГРДП открывает возможность совершенствования персонифицированной вторичной профилактики БА с учетом смены сезонов с различной влажностью атмосферного

воздуха. Представленные в данной работе модели прогнозирования осмотической ГРДП и контроля БА с использованием несложных к получению переменных, могут помочь в разработке адекватных режимов базисной противовоспалительной и бронхолитической терапии для пациентов с БА, чувствительных к воздействию влажного воздуха. Коррекция базисной терапии накануне наступления сезона с высокой влажностью воздуха может быть рекомендована в качестве одного из эффективных путей профилактики потери контроля над БА и, как следствие, уменьшения частоты госпитализаций и снижения экономического бремени.

ВЫВОДЫ

1. ГРДП на гипоосмотический стимул у больных БА детерминируется ОНП генов *TRPV2* и *TRPV4*. Установлено, что СС генотип rs1129235 *TRPV2* повышает шанс развития ГРДП на гипоосмотический стимул в 3,54 раза 95%ДИ (1,55; 8,07), p=0,002. В то же время генотип GG по ОНП rs3813769 и наличие аллеля G по ОНП rs7217735 в гомо- или гетерозиготном состоянии обладают протективным действием в отношении формирования гипоосмотической ГРДП (p<0,001 и p=0,032 (ОШ 0,45 95%ДИ (0,22–0,95), соответственно). Для гена *TRPV4* установлена ассоциация rs6606743 с бронхопровокационной пробой с ИДВ (носительство АА генотипа снижает шанс возникновения ГРДП в ответ на снижение осмотического давления в 0,43 раза (95%ДИ (0,19; 0,94), p=0,027)).

2. ОНП rs222747 *TRPV1* может быть связан с развитием ГРДП на ДФН. GG генотип достоверно чаще встречается у лиц с бронхоспазмом после выполнения соответствующей бронхопровокационной пробы. Значимость ассоциации подтвердилась в рецессивной модели наследования (p=0,04).

3. Повышение уровня экспрессии *TRPV1* и *TRPV2* в бронхиальном эпителии у больных БА связано с развитием ГРДП на гипо- и гиперосмотические стимулы.

4. Генетически детерминированная осмотическая ГРДП у больных БА ассоциируется с потерей контроля над заболеванием и определяет особенности его течения. Пациенты с бронхоспазмом в ответ на воздействие гипо- и гиперосмотических аэрозольных стимулов имеют более тяжелое течение заболевания. Осмотическая ГРДП тем сильнее, чем ниже исходные скоростные показатели форсированного выдоха пациента при спирометрии. Бронхоспазм на осмотические стимулы характеризуется обратной корреляцией с выраженностью бронходилатационной реакцией дыхательных путей в ответ на ингаляцию КДБА.

5. Прогнозирование осмотической ГРДП при воздействии высокой относительной влажности воздуха возможно на основании клинико-функциональных данных и генетических предикторов. Разработан способ прогнозирования осмотической ГРДП с использованием таких параметров, как

тяжесть БА, изменение $ОФВ_1$ после ингаляции КДБА (сальбутамола) и ОНП rs1129235 гена *TRPV2* Чувствительность данного способа равна 68%, специфичность – 68%, точность – 68%.

6. Больные БА имеют более высокую вероятность потери контроля над заболеванием при наличии АА генотипа по ОНП rs7217735 гена *TRPV2* (ОШ 2,46 95%ДИ (1,27-4,75), p=0,007).

7. Прогнозирование потери контроля над БА в период сезонного повышения влажности атмосферного воздуха возможно с использованием установленных клинико-функциональных и генетических предикторов. Разработан способ прогнозирования потери контроля БА с использованием таких показателей, как тяжесть БА, выраженность гипоосмотической ГРДП в ответ на бронхопровокационную пробу с ИДВ в виде снижения $ОФВ_1$, а также ОНП rs7217735 *TRPV2*. Чувствительность данного способа равна 80%, специфичность – 79,2%, точность – 80%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам со среднетяжелым течением БА и положительной реакцией на ингаляцию бронхолитика сальбутамола рекомендовано проведение генотипирования по ОНП rs1129235 гена осмотической рецепции *TRPV2* для определения риска развития гипоосмотической ГРДП.

Для прогнозирования возможно использование математического уравнения:

$$F=-1{,}90584+1{,}06002\times TRPV2+0{,}06968\times dОФВ_1БЛ+0{,}84281\times БА,$$

где *TRPV2* – переменная, принимающая значение «1» – при генотипе CC по ОНП rs1129235, «0» – при генотипах AA или AC;

dОФВ$_1$БЛ– переменная, отражающая изменение (Δ) в % показателя ОФВ$_1$ после ингаляции сальбутамола;

БА – переменная, отражающая степень тяжести заболевания, принимающая значение «1» – при средней тяжести, «0» – при легкой.

Вычисление вероятности возникновения гипоосмотической ГРДП производится по формуле:

$$P=1/(1+e^{-F}),$$

где *e* – основание натурального логарифма (2,718),

F – значение, полученное вычислением по формуле.

Полученную вероятность P соотносят с граничным значением 0,46. В случае P>0,46 можно говорить о повышенном риске развития ГРДП на гипоосмотический стимул.

2. Пациентам-носителям CC генотипа rs1129235 *TRPV2* или с вычисленной вероятностью P>0,46 рекомендовано наблюдение у пульмонолога для корректировки терапии в периоды повышенной влажности атмосферного воздуха как фактора, гипоосмотически индуцирующего бронхоспазм, с целью предупреждения ухудшения контроля и обострения заболевания.

3. Дополнительно для прогнозирования потери контроля над БА в период повышенной влажности атмосферного воздуха пациентам рекомендовано проведение генотипирования по ОНП rs7217735 *TRPV2*, а также

бронхопровокационной пробы с ИДВ. На основании полученных данных использовать уравнение:

$$F=-0,627725+1,091917\times\text{тяжесть БА}+0,764803\times rs7217735-0,164064\times\Delta ОФВ_1,$$

где *тяжесть БА* – переменная, отражающая степень тяжести БА, принимающая значение «1» – при средней тяжести, «0» – при легкой;

rs7217735 – переменная гена TRPV2, принимающая значение «1» – при генотипе АА по ОНП rs7217735, «0» – при генотипе AG или GG;

$\Delta ОФВ_1$ – количественная переменная, отражающая изменение $ОФВ_1$ после бронхопровокационной пробы с ИДВ.

Вычисление вероятности возникновения риска потери контроля над БА производится по формуле:

$$P=1/(1+e^{-F}),$$

где e – основание натурального логарифма (2,718),

F – значение, полученное вычислением по формуле (1).

В случае, если Р больше 0,77, риск потери контроля над БА считается высоким, если меньше 0,77 – риск возникновения неконтролируемого течения БА при повышении влажности атмосферного воздуха – низкий.

4. Пациентам с высоким риском неконтролируемого течения БА рекомендовано наблюдение у пульмонолога для корректировки терапии в периоды повышенной влажности атмосферного воздуха как фактора, индуцирующего гипоосмотический бронхоспазм, с целью предупреждения ухудшения контроля и обострения заболевания.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСТ – Asthma Control Test, тест по контролю над астмой

TRP – transient receptor potential, каналы с транзиторным рецепторным потенциалом

TRPV – каналы с транзиторным рецепторным потенциалом ваниллоидного подсемейства

БА – бронхиальная астма

ВФЛ – вентиляционная функция легких

ДДБА – длительно действующие β2-агонистами

ДИ – доверительный интервал

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДФН – дозированная физическая нагрузка

ИГКС – ингаляционные глюкокортикостероиды

ИГР – ингаляция гипертонического раствора

ИДВ – ингаляция дистиллированной воды

ИЛ – интерлейкин

ИТ – индекс Тиффно

КДБА – короткодействующие β2-агонистами

кДНК – комплементарная ДНК

$МОС_{25}$ – мгновенная объемная скорость на уровне 25% ФЖЕЛ

$МОС_{50}$ – мгновенная объемная скорость на уровне 50% ФЖЕЛ

$МОС_{75}$ – мгновенная объемная скорость на уровне 75% ФЖЕЛ

м-РНК – матричная рибонуклеиновая кислота

ОНП – однонуклеотидный полиморфизм

$ОФВ_1$ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду

ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

ПОС – пиковая объемная скорость выдоха

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

$СОС_{25-75}$ – средняя объемная скорость в средней части форсированного экспираторного маневра между 25% и 75% ФЖЕЛ

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЧСС – частота сердечных сокращений