

Особенности экспрессии генов NOS в слизистой бронхов при бронхиальной астме

1 – Центр по профилактике и борьбе со СПИД и ИЗ: 683003, Петропавловск-Камчатский, ул. Ленинградская, 114, к. 2;

2 – ГОУ ВПО "Сибирский государственный медицинский университет Росздрава": 634050, Томск, Московский тракт, 2

O.V.Kozina, L.M.Ogorodova, P.A.Selivanova, I.V.Petrova, E.A.Gereng, A.E.Sazonov

NOS gene expressions in bronchial mucosa of patients with bronchial asthma

Summary

The purpose of this work was to investigate NOS gene expression and its role in remodeling and bronchoconstriction in patients with bronchial asthma. The study involved 65 adults with asthma. Morphometric, functional and molecular investigations were conducted in bronchial mucosa; levels of nitrites, 3-nitrotyrosine, and nitrosoglutathione were measured in bronchoalveolar lavage fluid, nitrite concentration was also measured in exhaled air condensate. The results confirmed that all three types of NOS providing enzymatic production of NO have been expressing in bronchial mucosa. The expression of inducible NOS mediated the accumulation of toxic NO metabolites but constitutive NOS isoforms provide circulation of stable NO donors. Morphological aspects of airway remodeling were associated with high expression of NOS2 and low expression of NOS1.

These associations between the NO-synthase gene expression and clinical and pathological features of asthma determined molecular mechanisms of inflammation, remodeling and bronchoconstriction, thereby providing variability of clinical phenotypes of asthma.

Key words: bronchial asthma, bronchial biopsy, mRNA NOS, 3-nitrotyrosine, nitrite, S-nitrosoglutathione.

Резюме

Цель работы состояла в изучении экспрессии генов NOS при бронхиальной астме (БА), а также их роли в механизмах ремоделирования и бронхообструкции. У 65 взрослых больных БА проводились морфометрические, функциональные и молекулярно-генетические исследования слизистой оболочки бронхов, в бронхоальвеолярном смыве оценивали содержание нитритов, 3-нитротирозина, нитрозоглутатиона, в конденсате выдыхаемого воздуха — концентрацию нитритов. Получены данные, подтверждающие, что в слизистой оболочке бронхов экспрессируются все 3 NOS, обеспечивающие ферментативную продукцию NO. Экспрессия индуцибельной NOS опосредует аккумуляцию токсичных метаболитов NO, а конститутивные изоформы определяют циркуляцию устойчивых донаторов NO. Морфологические аспекты патологического ремоделирования дыхательных путей ассоциированы с высокой генной экспрессией NOS2 и низкой генной экспрессией NOS1. Обнаруженная связь экспрессии генов NO-синтаз с клинико-патогенетическими признаками БА определяет молекулярные механизмы регуляции воспаления, ремоделирования и бронхообструкции, отвечая, таким образом, за вариативность фенотипических проявлений данного заболевания.

Ключевые слова: бронхиальная астма, бронхобиопсия, мРНК NOS, 3-нитротирозин, нитриты, нитрозоглутатион.

Оксид азота (NO) является важной сигнальной молекулой для регуляции воспаления и тонуса бронхов. Эффекты NO в дыхательных путях (ДП) зависят от его количества и локализации синтеза, что, в свою очередь, определяется активностью матричной РНК (мРНК) NO-синтаз [1, 2]. Учитывая вариативность морфологических признаков и неоднородность эффекторных клеток, участвующих в воспалении при клинических фенотипах бронхиальной астмы (БА) [3], можно предполагать, что экспрессия мРНК генов NOS и их вклад в механизмы персистенции воспаления при БА в отдельных случаях могут быть различными.

Цель работы состояла в изучении экспрессии генов NOS при БА и их роли в механизмах ремоделирования и бронхообструкции.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие 65 больных БА (80 % — женщины), средний возраст которых составил $46,48 \pm 1,79$ года. На основании диагностических критериев GINA 2006 [4] у 8 пациентов диагностирована легкая, у 27 — среднетяжелая и 30 —

тяжелая форма БА, причем у всех верифицировано неконтролируемое течение заболевания.

Критерии включения в исследование были следующими: возраст пациентов от 19 до 60 лет; положительные результаты кожных прик-тестов с ≥ 1 аэроаллергенами; ранее подтвержденный диагноз БА; провокационная концентрация, вызывающая падение объема форсированного выдоха за 1-ю с (ОФВ₁) на 20 % в метахолиновом тесте ≤ 8 мг/мл; отсутствие адекватного тяжести болезни объема противовоспалительной терапии (за 4 нед. до включения в исследование); отсутствие острых респираторных заболеваний, а также обострений БА в течение предшествующих 4 нед., умение правильно пользоваться ингалятором, пикфлоуметром; способность своевременно и верно заполнять дневники самоконтроля (пиковая скорость выдоха (ПСВ) утром и вечером, оценка дневных и ночных симптомов в баллах).

Всем пациентам после включения в исследование назначена контролирующая терапия в соответствии с тяжестью БА [4]: при легкой персистирующей БА — флутиказона пропионат (200 мкг в сутки 2 раза в день), при среднетяжелой персистирующей БА —

сальметерол / флутиказона пропионат (по 50 / 250 мкг 2 раза в сутки), при тяжелой персистирующей БА — сальметерол / флутиказона пропионат (по 50 / 500 мкг 2 раза в сутки). Больные тяжелой БА при включении в исследование получали системные глюкокортикостероиды (сГКС) не менее 6 мес., на лечебном этапе протокола дозу сГКС удалось снизить вдвое. В процессе исследования проводилось мониторингирование симптомов и принимаемых лекарств с указанием доз в дневнике самоконтроля, регистрировались результаты теста АСТ ежемесячно, в динамике оценивались показатели функции легких.

Специальные исследования проведены дважды: до назначения стандартного лечения и через 6 мес. от начала терапии в условиях госпитализации с использованием содержимого конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ), бронхобиоптатов и бронхиальных смывов (БС). Полученные КВВ, БС и бронхобиоптаты сразу помещались в сосуд Дюара (жидкий азот) для последующего единовременного определения матричной активности РНК NOS в слизистой бронхов и метаболитов NO — нитритов, 3-нитротирозина (3-НТ), S-нитрозоглутатиона (GSNO) — в супернатанте БС.

Спектрофотометрические исследования содержания нитритов в БС и КВВ проводили при длине волны 540 нм с помощью реактива Грисса, 3-НТ в БС — при длине волны 360–380 нм [5], нитрозотиолов в БС — при длине волны 335 нм [6].

Морфометрические исследования бронхобиоптата предпринимали для определения объемной плотности покровного эпителия, анализа плотности клеточных популяций, относительного объема соединительной ткани и желез, высоты покровного эпителия, толщины базальной мембраны.

Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени проводили для определения активности мРНК NOS в биоптатах бронхиальной стенки с использованием специфически-подобранных праймеров. Для мРНК NOS1 они были следующими: прямой — 5'-TTCGGCTGTGCTTTGATGGA-3', обратный — 5'-GTTGACCGACTGGATTTAGGGCT-CT-3'; для мРНК NOS2: прямой — 5'-GGAAGCGG-

TAACAAAGGAGATAGAA-3', обратный — 5'-GGCAGGGCGTACCACCTTTAGCT-3'; для мРНК NOS3: прямой — 5'-GCCAAGGGCACCAGGCATCACCAGGA-3', обратный — 5'-GTTACCAGCACCAGCGTCTCGT-3'. Для каждой пары праймеров подбиралась соответствующая программа амплификации. Экспрессию мРНК оценивали количественно в сравнении с экспрессией мРНК глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФД). Праймеры для ГАФД были следующими: прямой — 5'-GGGAAGCTCACTGGCATGGCCTTCC-3', обратный — 5'-CATGTGGGCCATGAGGTCCACCAC-3'.

Исследование выполнено по протоколу, утвержденному на заседании локального комитета по этике ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава 31.01.06 (регистрационный № 383). Все больные подписали информированное согласие до включения в исследование.

Исследование проведено при поддержке грантов 6-й рамочной программы FP6-2004-LSH-5 GABRIEL (Proposal 018996), РФФИ (09-04-99121-р_офи), ФЦП (02.512.11.2281).

Данные анализировали с помощью пакета программ *Statistica 6.0*: проводили анализ вариационных рядов методами описательной статистики с вычислением среднего значения (*M*) и ошибки среднего (*m*), медианы (*Me*), стандартного отклонения. Для оценки статистической значимости различий показателей выборок, не подчиняющихся закону нормального распределения, использовали непараметрические критерии Манна–Уитни и Вилкоксона. Чтобы обнаружить связь между исследуемыми показателями, проводили корреляционный анализ, вычисляя коэффициент ранговой корреляции Спирмена (*r*).

Результаты и обсуждение

Все пациентов на момент включения в исследование имели симптоматическую БА, у всех показатель АСТ-теста был < 19 баллов (неконтролируемое заболевание). Они не получали ингаляционные глюкокортикостероиды (иГКС) на регулярной основе и в объеме, соответствующем тяжести БА. Результаты мониторингирования больных в течение 6 мес.

Таблица 1
Динамика клинико-функциональных показателей БА у больных на фоне лечения

Показатели	БА до лечения			БА после лечения		
	легкая, n = 8	среднетяжелая, n = 27	тяжелая, n = 30	легкая, n = 8	среднетяжелая, n = 27	тяжелая, n = 30
ОФВ ₁ , %долж.	84,51 ± 1,94 ^д	74,28 ± 1,87 ^{б,д}	58,87 ± 2,29 ^{б,г,д}	89,87 ± 0,64	80,12 ± 1,66 ^б	69,77 ± 2,69 ^{б,г}
ФЖЕЛ, %долж.	89,22 ± 2,04 ^е	80,49 ± 2,89 ^{а,е}	78,24 ± 3,20 ^а	113,40 ± 4,21	94,41 ± 3,18 ^б	73,67 ± 3,09 ^{б,г}
Утренние значения ПСВ, %	85,22 ± 1,39 ^д	77,49 ± 1,81 ^{а,д}	58,59 ± 2,63 ^{б,г}	99,64 ± 2,27	82,35 ± 1,98 ^б	69,14 ± 2,04 ^{б,г}
Дневные симптомы, баллы*	0,23 ± 0,04 ^е	1,55 ± 0,16 ^{б,д}	4,05 ± 0,33 ^{б,г,е}	0,097 ± 0,012	1,00 ± 0,13	2,05 ± 0,236 ^{б,г}
Ночные симптомы, баллы*	0,0170 ± 0,009 ^е	0,13 ± 0,014 ^{б,е}	2,04 ± 0,16 ^{б,г,е}	0	0,05 ± 0,01 ^б	0,61 ± 0,18 ^{б,г}
Потребность в бронхолитиках, ингаляций в сутки	0,06 ± 0,01 ^д	0,96 ± 0,12 ^{а,е}	8,08 ± 1,00 ^{б,г,д}	0,010 ± 0,001	0,02 ± 0,01	4,39 ± 0,81 ^{б,г}
Обострения, число случаев в год	0,33 ± 0,02 ^е	5,6 ± 1,0 ^{б,д}	9,2 ± 0,9 ^{б,в}	0	3,3 ± 0,9 ^б	5,8 ± 1,6 ^{б,г}
Результаты АСТ-теста, баллы	19,25 ± 0,36 ^е	15,04 ± 1,19 ^{б,е}	13,65 ± 0,16 ^{б,г,е}	24,50 ± 0,19	23,92 ± 0,18	20,48 ± 0,34 ^{б,г}

Примечание: * — оценка по шкале симптомов; ^а — $p < 0,05$; ^б — $p < 0,001$ — по сравнению с больными легкой БА; ^в — $p < 0,05$; ^г — $p < 0,001$ — по сравнению с больными среднетяжелой БА; ^д — $p < 0,05$; ^е — $p < 0,001$ — при сравнении показателей до и после лечения.

Таблица 2
Экспрессия генов NO-синтаз в стенке бронхов у больных БА до лечения, Ме (25–75 %)

Формы БА	Уровень экспрессии мРНК, %		
	NOS1	NOS2	NOS3
Легкая	20,4 (20,1–20,9), n = 5	55,9 (42,7–60,2), n = 5; p ₁ = 0,0431	51,2 (50,0–55,4), n = 5; p ₁ = 0,0479
Среднетяжелая	22,8 (21,5–26,4), n = 19	52,6 (40,1–56,3), n = 13; p ₁ = 0,0033	53,9 (51,3–55,6), n = 20; p ₁ = 0,0004
Тяжелая	10,8 (9,9–12,0), n = 22	80,6 (79,6–85,6), n = 8; p ₁ = 0,0179	51,5 (40,8–54,2), n = 26; p ₁ = 0,0001; p ₂ = 0,0179
p	p _{лс} = 0,0302; p _{лт} = 0,0028; p _{ст} = 0,0001	p _{лт} = 0,0015; p _{ст} = 0,0001	

Примечание: p₁ – по сравнению с NOS1 (критерий Вилкоксона); p₂ – уровень значимости различий по сравнению с NOS2 (критерий Вилкоксона); p_{лс} – для больных легкой и среднетяжелой БА (U-критерий Манна-Уитни); p_{лт} – для больных легкой и тяжелой БА (U-критерий Манна-Уитни); p_{ст} – для больных среднетяжелой и тяжелой БА (U-критерий Манна-Уитни).

лечебного периода показали положительную клинико-функциональную динамику на фоне контролирующей терапии (табл. 1).

У всех пациентов с легкой БА через 6 мес. стандартного лечения показатели АСТ были > 20 баллов, что свидетельствовало о контролируемом течении заболевания. При среднетяжелой БА контроль был достигнут у 75 % пациентов. В группе тяжелой БА, несмотря на положительную динамику клинико-функциональных параметров на фоне стандартного лечения, ни у одного пациента не достигнут контроль над заболеванием по окончании лечебного периода (АСТ = 20,48 ± 0,34 балла).

При исследовании бронхобиоптатов до и после курса противовоспалительной терапии выявлена матричная активность нейрональной (NOS1), индуцибельной (NOS2) и эндотелиальной (NOS3) синтаз. Это свидетельствует, что все изоформы фермента в той или иной степени участвуют в синтезе NO в ДП.

Исходно установлена достоверно более выраженная экспрессия генов NOS2 и NOS3, в сравнении с NOS1, при любой тяжести БА (табл. 2).

Как видно из табл. 2, наименьший уровень мРНК NOS1 определен при тяжелой БА (< 1/2 активности в сравнении с легкой и среднетяжелой БА). Учитывая, что нейрональная NO-синтаза известна как нейротрансмиттер нервных синапсов, а также как регулятор физиологических процессов дыхания [7], можно предположить, что снижение экспрессии этой изоформы фермента является механизмом развития бронхообструкции при тяжелой БА, обусловленным дефектностью выделения нейромедиаторов и срывом синаптической передачи.

Противоположной была ситуация в отношении мРНК NOS2: при тяжелой форме БА уровень экспрессии индуцибельной формы NOS до лечения оказался самым высоким. Индуцибельная NOS обеспечивает наибольший удельный вес NO в структуре избыточной продукции NO ДП. Ее экспрессия активируется бактериальными полисахаридами и цитокинами (интерлейкином-1, фактором некроза опухоли-α, интерфероном-γ), которые секретируются активированными макрофагами, легочными фибробластами, эозинофилами, нейтрофилами, тучными, эпителиальными клетками, гладкими мышцами сосудов [2, 8]. Продукция NO с участием NOS2 защищает ДП от инфекционных патогенов (липополисахариды стимулируют TLR-зависимую транскрипцию NOS2). Одновременно с этим повышенная концентрация NO приводит к сдвигу метаболизма NO в сторону образования пероксинитрита и 3-НТ, вызывая повреждение эпителия и эндотелия сосудов [9, 10] и способствуя тем самым персистенции аллергического воспаления и процессам ремоделирования бронхов.

Экспрессия эндотелиальной NOS в стенке бронхов при включении в исследование у всех больных БА, вне зависимости от тяжести, была сопоставимой. Эндотелиальная NOS относится к конститутивным изоформам фермента, она экспрессируется постоянно и обеспечивает базальную продукцию NO [11]. 95 % активности этого фермента поддерживаются эндотелиальными клетками. Идентичная экспрессия мРНК NOS3 в ткани бронхов у пациентов с разными формами БА и незначительный удельный вклад образующегося под влиянием активации NOS3 оксида азота в общую NO-продуцирующую

Таблица 3
Экспрессия генов NO-синтаз в бронхобиоптатах больных БА после лечения, Ме (25–75 %)

Формы БА	Уровень экспрессии мРНК, %		
	NOS1	NOS2	NOS3
Легкая	19,3 (17,2–20,8), n = 6	55,9 (42,7–60,2), n = 5; p ₁ = 0,0431	58,4 (56,6–60,0), n = 4; p ₁ = 0,0479
Среднетяжелая	22,0 (14,8–27,2), n = 12	42,8 (40,7–52,6), n = 13; p ₁ = 0,005	52,3 (50,8–54,9), n = 10; p ₁ = 0,012; p ₂ = 0,017
Тяжелая	10,1 (9,0–19,4), n = 14	61,8 (60,3–62,5), n = 7; p ₁ = 0,0431	54,4 (50,5–58,4), n = 16; p ₁ = 0,0009; p ₂ = 0,0277
p	p _{лт} = 0,0200; p _{ст} = 0,0005	p _{лт} = 0,0025; p _{ст} = 0,0018	p _{лс} = 0,0019

Примечание: p₁ – по сравнению с NOS1 (критерий Вилкоксона); p₂ – по сравнению с NOS2 (критерий Вилкоксона); p_{лс} – уровень значимости для больных легкой и среднетяжелой БА (U-критерий Манна-Уитни); p_{лт} – для больных легкой и тяжелой БА (U-критерий Манна-Уитни); p_{ст} – для пациентов среднетяжелой и тяжелой БА (U-критерий Манна-Уитни).

Таблица 4
Значимые корреляционные зависимости экспрессии генов NO-синтаз и показателей, характеризующих функцию легких, n = 65

Показатели	ОФВ ₁ , %	ПСВ, %	ФЖЕЛ
мРНК NOS1, %	$r = 0,660001; p_1 < 0,000001$	–	$r = 0,271772; p_1 = 0,049002$
мРНК NOS2, %	–	$r = -0,586690, p_1 = 0,000655;$ $r = -0,398101, p_2 = 0,032448$	$r = -0,503175; p_1 = 0,004593$
мРНК NOS3, %	$r = 0,387588; p_1 = 0,002647$	–	–

Примечание: p_1 – до лечения; p_2 – после лечения.

функцию ДП при БА свидетельствуют о существовании конститутивных процессов образования эндогенного пула этой молекулы.

Как и до лечения, по окончании терапии у больных обнаружена высокая экспрессия генов NOS2 и NOS3 в сравнении с уровнем гена, ответственного за продукцию нейрональной формы фермента (табл. 3).

Активность мРНК NOS1 после лечения не претерпела динамики и оставалась по-прежнему достоверно более низкой при тяжелой БА, в сравнении с легкой и среднетяжелой формами.

Экспрессия гена индуцибельной изоформы на фоне лечения снизилась достоверно только при тяжелой БА (исходный уровень мРНК NOS2 – 80,6 % (95%-ный доверительный интервал (ДИ) – 79,6–85,6) vs 61,8 % (95%-ный ДИ – 60,3–62,5) после лечения; $p = 0,017961$) и продемонстрировала тенденцию к снижению при легкой и среднетяжелой БА. При этом экспрессия данного гена оставалась достоверно более высокой в сравнении с легкой и среднетяжелой БА и в сопоставлении с мРНК NOS1.

Значения уровня мРНК гена NOS3 на фоне лечения не изменились и были сопоставимыми в группах среднетяжелой и тяжелой БА, отличаясь более низким уровнем от легкой БА. Вовлечение генов эндотелиальной NOS в механизмы развития среднетяжелой и тяжелой БА указывает на то, что у данной категории пациентов эндотелиальная дисфункция лежит в основе изменений сердечно-сосудистой системы [12].

Терапевтический эффект применения ИГКС при БА, вероятно, связан с их взаимодействием с ядерными рецепторами. Последние активируют экспрессию генов, кодирующих противовоспалительные белки, и ингибируют активность факторов транскрипции, контролирующих экспрессию тех белков, которые вызывают воспалительную реакцию в бронхах [13, 14].

Доказательством участия генов NOS в регуляции бронхиальной проходимости являются результаты

анализа ассоциаций между активностью экспрессии этих генов и показателями функции легких (табл. 4). Так, установлена прямая корреляционная взаимосвязь между низким уровнем экспрессии нейрональной и эндотелиальной изоформ NO-синтаз в ткани бронхов и низкими параметрами функции внешнего дыхания. Это подтверждает изложенные выше данные о значении недостаточной активности матричных мРНК NOS1 и NOS3 в дисрегуляции бронхиальной проходимости при БА.

Напротив, отмечена достоверная зависимость между высокой матричной активностью индуцибельной NO-синтазы и ограничением воздушного потока в легких, которая сохранилась и после курса полноценной контролирующей терапии. Вероятно, участие индуцибельной NOS в регуляции бронхиальной проходимости является базисным молекулярным механизмом болезни, определяющим сущность патологических изменений в ДП – воспаления и бронхообструкции.

Каким образом гены NOS участвуют в формировании бронхообструкции как основного проявления воспаления в ДП? Этот процесс можно проследить на примере продукции и накопления метаболитов NO в бронхолегочной системе при БА. В предшествующих исследованиях были показаны достоверные различия уровней нитритов, нитрозоглутатиона и 3-НТ при разных формах БА [10, 15]. При более тяжелом течении БА до лечения зарегистрированы высокие концентрации нитритов, 3-НТ и низкий уровень депо NO – GSNO в БС, а также высокий уровень нитритов в КВВ ($6,57 \pm 1,52$ мкМ, $204,30 \pm 40,06$ мМ, $0,84 \pm 0,19$ мМ и $11,07 \pm 0,83$ мкМ соответственно). Наряду с этим менее интенсивным было накопление токсических метаболитов NO (3-НТ) при легких формах БА ($4,81 \pm 0,79$ мМ и $69,28 \pm 8,43$ мМ при легкой и среднетяжелой БА соответственно). Анализ взаимосвязи уровня мРНК NOS и основных метаболитов NO позволяет определить дифференцированный вклад различных изоформ NOS в метаболизм этой молекулы (табл. 5).

Таблица 5
Значимые корреляционные зависимости экспрессии генов NO-синтаз и метаболитов NO, n = 65

Показатели	мРНК NOS1, %	мРНК NOS2, %	мРНК NOS3, %
Нитриты в КВВ, мкМ	$r = -0,479924; p_2 = 0,002648$	–	–
Нитриты в БС, мкМ	–	–	$r = -0,428572; p_2 = 0,014393$
GSNO, мМ	$r = 0,510009; p_1 = 0,000096$	$r = -0,541960; p_1 = 0,001978$	–
3-НТ, мМ	–	$r = 0,555746; p_1 = 0,003202$	–

Примечание: p_1 – до лечения; p_2 – после лечения.

Оказалось, что экспрессия различных генов NOS либо опосредует аккумуляцию токсичных метаболитов NO (в случае повышенной экспрессии мРНК NOS2), либо определяет циркуляцию устойчивых донаторов NO (в случае повышенной экспрессии мРНК NOS1 и NOS3). Учитывая необратимое снижение экспрессии NOS1 при тяжелой БА и достоверно более высокую экспрессию NOS2 до лечения у этих пациентов, можно утверждать, что данный молекулярный механизм принимает участие в дисрегуляции бронхиального тонуса и поддержании бронхообструктивного синдрома при тяжелой БА.

Как реализуется этот молекулярный механизм на морфологическом уровне? Чтобы уточнить вклад различных изоформ NOS в процесс ремоделирования бронхиальной стенки у больных БА, изучена взаимосвязь данных, полученных при морфологическом и молекулярно-генетическом исследовании бронхобиоптатов. Корреляционный анализ этих показателей подтверждает ассоциацию процессов ремоделирования и воспаления. Так, обнаружена положительная достоверная корреляция между мРНК NOS1 с плотностью реснитчатых эпителиоцитов ($r = 0,573538$; $p = 0,000135$), объемом железистой ткани ($r = 0,771159$; $p < 0,000001$), высотой эпителиального пласта ($r = 0,616527$; $p = 0,000023$), отрицательная – с толщиной базальной мембраны ($r = -0,605615$; $p = 0,000035$).

Установлена значимая положительная ассоциация между уровнем мРНК NOS2 и толщиной базальной мембраны ($r = 0,517474$; $p = 0,033384$). После лечения определена положительная корреляция мРНК NOS2 с объемом соединительной ткани ($r = 0,589267$; $p = 0,010071$) как свидетельство того, что даже после лечения экспрессия iNOS поддерживает текущие процессы ремоделирования в бронхах.

При анализе плотности клеточного инфильтрата установлена значимая взаимосвязь снижения уровня экспрессии мРНК NOS1 с увеличением числа лимфоцитов ($r = -0,642066$; $p = 0,000008$) и снижением плотности эозинофилов ($r = 0,533192$; $p = 0,000396$). Высокий уровень мРНК NOS2, выявленный до лечения, достоверно коррелировал с низкой плотностью эозинофилов в тканях ДП ($r = -0,625988$; $p = 0,004142$).

Заключение

Выявленные взаимосвязи между экспрессией генов NOS в бронхобиоптатах и маркерами воспаления – содержанием метаболитов NO в дыхательных путях, клиническими и функциональными проявлениями БА, морфометрическими параметрами слизистой – позволяют сделать вывод о том, что NO-синтазы вносят существенный вклад в поддержание процессов ремоделирования и бронхообструкции при БА.

Литература

1. Ricciardolo F.M., Sterk P.J., Gaston B., Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol. Rev.* 2004; 84: 731–765.

2. Murad F. Nitric oxide and cyclic GMP in cell signaling and drug development. *N. Engl. J. Med.* 2006; 355: 2003–2011.
3. Огородова Л.М., Селиванова П.А., Геренг Е.А. и др. Патоморфологическая характеристика нестабильной бронхиальной астмы (фенотип brittle). *Тер. арх.* 2008; 3: 37.
4. Global Initiative for Asthma. NIH publication number 01-3659, NHLBI / WHO. National Institutes of Health; 2006.
5. Каминская Л.Ю., Жлоба А.А., Александрова Л.А. и др. Влияние донатора NO нитрозотиола глутатиона на уровень окислов азота и малонового диальдегида в крови крыс. *Артер. гипертенз.* 2005; 11 (1): 10–17.
6. Massey R.C., Dennis M.J., McWeeny D.J. Some observations concerning the S-nitroso and S-phenylsulphonyl derivatives of L-cysteine and glutathione. *Tetrahedron Lett.* 1985; 26 (16): 2013–2016.
7. Luhrs H., Papadopoulos T., Schmidt H.H., Menzel T. Type I nitric oxide synthase in the human lung is predominantly expressed in capillary endothelial cells. *Respir. Physiol.* 2002; 129: 367–374.
8. Laprise C., Sladek R., Ponton A. et al. Functional classes of bronchial mucosa genes that are differentially expressed in asthma. *B. M. C. Genomics* 2004; 5: 21–31.
9. Dweik R.A., Comhair S.A., Gaston B. et al. NO chemical events in the human airway during the immediate and late antigen-induced asthmatic response. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001; 98 (5): 2622–2627.
10. Козина О.В., Огородова Л.М., Андрушкевич В.В. и др. Метаболиты оксида азота и их значение в патогенезе бронхиальной астмы. *Клин. лаб. диагн.* 2008; 2: 52–57.
11. Pechkovsky D.V., Zissel G., Goldmann T. et al. Pattern of NOS2 and NOS3 mRNA expression in human A549 cells and primary cultured AEC II. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2002; 282: 684–692.
12. Старовойтова Е.А., Иванов С.Н., Огородова Л.М. Особенности гемодинамики малого круга кровообращения и функционального состояния эндотелия у детей с бронхиальной астмой. *Пульмонология* 2007; 4: 56–59.
13. Brindicci C., Ito K., Barnes P.J., Kharitonov S.A. Effect of an inducible nitric oxide synthase inhibitor on differential flow-exhaled nitric oxide in asthmatic patients and healthy volunteers. *Chest* 2007; 132: 581–588.
14. Kanazawa H., Nomura S., Hirata K., Yoshikawa J. Effect of inhaled beclomethasone dipropionate on peroxynitrite inhibitory activity in induced sputum from asthmatic patients. *Chest* 2003; 124 (5): 1755–1761.
15. Козина О.В., Андрушкевич В.В., Сазонов А.Э. и др. Клинико-биохимические аспекты развития обструкции бронхов при бронхиальной астме. *Пульмонология* 2007; 2: 52–57.

Информация об авторах

Козина Ольга Владимировна – к. м. н., врач Центра по профилактике и борьбе со СПИД и ИЗ; тел.: (4152) 42-17-22; e-mail: ovkozina 2006@rambler.ru

Огородова Людмила Михайловна – д. м. н., проф., член-корр. РАМН, проректор по НР и ПП СибГМУ; тел.: (3822) 53-23-04; e-mail: lmogorodova@mail.ru

Селиванова Полина Александровна – аспирант кафедры госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины СибГМУ; тел.: (3822) 51-49-67; e-mail: p.selivanova@mail.ru

Петрова Ирина Валерьевна – к. м. н., старший научный сотрудник ЦНИЛ СибГМУ; тел.: 8 (3822) 52-98-85; e-mail: irinavall@mail.ru

Геренг Елена Андреевна – к. м. н., старший преподаватель кафедры морфологии и общей патологии медико-биологического факультета СибГМУ; тел.: (3822) 42-64-43; e-mail: e-gereng@mail.ru

Сазонов Алексей Эдуардович – д. м. н., зам. директора ЦНИЛ СибГМУ; тел.: (3822) 52-99-16; e-mail: biotech@ssmu.net.ru

Поступила 28.05.09
© Коллектив авторов, 2009
УДК 616.248-092