

Экспрессия генов ADRB2 и CHRM3 в лейкоцитах крови у больных с обострением хронической обструктивной болезни легких

А.Б. Чухловин, Н.А. Кузубова, Н.Д. Елшин, О.Н. Титова

ГБОУ ВПО "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова" Минздрава России: 197089, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6 / 8

Резюме

Целью пилотного исследования явилась оценка уровней активности генов ADRB2 и CHRM3 в лейкоцитах крови у пациентов ($n = 29$) с обострениями хронической обструктивной болезни легких (II–III стадия, группа D по GOLD) на фоне 2-недельного комплексного лечения с применением антибактериальной терапии, тиотропия бромидом, формотерола и ингаляций глюкокортикостероидов (ГКС). До и после лечения определялось содержание мРНК генов адreno- и холинорецепторов (ADRB2 и CHRM3) в лейкоцитах крови больных. Средние значения экспрессии изученных генов достоверно не различались до и после лечения. Выявлены достоверные корреляции между изменениями экспрессии генов ADRB2 и CHRM3, динамикой объема форсированного выдоха за 1-ю секунду и уровнями С-реактивного белка в крови после купирования обострения. По результатам работы подтверждена возможность модуляции адренорецепторов под влиянием β -агонистов и ингаляций ГКС, а также ингибирования экспрессии М-холинорецепторов при сочетанном применении ГКС и М-холинолитиков.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, комплексная терапия, лейкоциты, CHRM3, ADRB2, экспрессия генов.

DOI: 10.18093/0869-0189-2015-25-2-151-156

ADRB2 and CHRM3 gene expression in blood leukocytes of patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease

A.B. Chukhlovin, N.A. Kuzubova, N.D. Elshin, O.N. Titova

State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia: 6 / 8, L'va Tolstogo ul., Saint-Petersburg, 197089, Russia

Summary

This pilot study was aimed at evaluation of ADRB2 and CHRM3 gene expression in COPD. *Methods.* We evaluated ADRB2 and CHRM3 gene expression in blood leukocytes from 29 patients with acute exacerbation of COPD (GOLD stage II to III, Group D) before and after 2-week combined therapy including antimicrobials, tiotropium bromide, formoterol and an inhaled steroid. ADRB2- and CHRM3-specific mRNA content was determined in leukocytes using real-time PCR. *Results.* Mean gene expression levels did not differ before and after treatment. However, we found a significant correlation between changes in ADRB2 and CHRM3 gene expression, change in FEV₁ and post-treatment C-reactive protein level.

Conclusion. The results confirm a possibility to affect adrenoceptors using beta agonists and inhaled steroids and to inhibit M-cholinoreceptor expression with M3-cholinolytics and inhaled steroids.

Key words: chronic obstructive lung disease, combined therapy, leukocytes, CHRM3, ADRB2, gene expression.

В современные протоколы лечения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) включена комплексная курсовая терапия бронхолитическими препаратами, основанная на сочетании адренергических и антихолинергических эффектов [1]. Клиническая эффективность данных препаратов при ХОБЛ сопоставима, однако β_2 -агонисты являются более быстродействующими, тогда как антихолинергические средства характеризуются лучшей переносимостью и меньшим риском побочных эффектов. Такая комбинированная терапия связана с их взаимодополняющим лечебным действием [2]. Мускариновые рецепторы и β -адренорецепторы являются физиологическими антагонистами в регуляции тонуса гладких мышц дыхательных путей [3]. В то же время при использовании одного из этих препаратов в качестве базисной терапии изменяется не только экспрессия целевого рецептора, но и рецептора противоположной направленности.

Основные фармакологические эффекты β -адренергических препаратов связаны с их влиянием на β_2 -адренорецепторы, которые локализуются в мембранах клеток дыхательных путей. Высокое содержание рецепторов ADRB2 отмечается в гладкомышечных структурах воздухоносных путей (30–40 000 на 1 клетку), а также в клетках легочного эпителия, эндотелия и альвеолоцитов 2-го типа. Кроме того, они обнаруживаются во многих других клетках и тканях, в т. ч. в лейкоцитах (Т- и В-лимфоцитах, тучных клетках и т. п.), эндотелии и юкстагломерулярных клетках почек [4, 5]. Показано, что в популяциях лимфоцитов человека обнаруживаются адренорецепторы всех 3 основных классов (ADRB1, ADRB2 и ADRB3), причем их связывающая активность и уровни экспрессии существенно различаются в зависимости от состояния макроорганизма [5].

Холинергические мускариновые рецепторы в легких человека выявляются в основном в гладкомы-

шечных клетках, эпителии и фибробластах легких. Кроме того, существуют многочисленные данные о наличии N- и М-холинорецепторов в Т- и В-лимфоцитах [6], т. к. выработка ацетилхолина значительно возрастает под влиянием неспецифических и специфических митогенных факторов лимфоцитов. Таким образом, холинергическая система лимфоцитов может быть важным звеном "иммунного синапса" в организме человека.

Поскольку лечебные эффекты адрено- и холинергических соединений могут быть связаны с активацией / репрессией генов ADRB2 и CHRM3, которые являются молекулярными мишенями этих препаратов, целью данной работы явилась оценка уровней активности генов ADRB2 и CHRM3 в лейкоцитах крови у пациентов с обострением ХОБЛ и выявление возможных связей с клинико-функциональными и лабораторными параметрами пациентов до и после завершения курса терапии обострения заболевания с использованием бронхолитических препаратов.

Материалы и методы

В ходе предварительных экспериментов были обследованы больные ХОБЛ (n = 29: 80 % – мужчины; возраст – 59–85 лет; медиана (Me) – 66,5 года), поступившие в Городской пульмонологический центр (СПб ГУЗ "Введенская городская клиническая больница") для лечения по поводу обострения заболевания. На момент исследования больные относились к группе D по классификации GOLD (2014).

В базовую терапию были включены тиотропия бромид (Спирива) 18 мкг 1 раз в сутки, а также Формотерол + Будесонид (Форадил Комби) 400 мкг / 12 мг 2 раза в сутки. В период обострения заболевания проводилась комбинированная терапия глюкокортикостероидами (ГКС), адрено- и холинергическими препаратами по следующей схеме: Беродуал (через небулайзер) – 1 мл 2 раза в сутки; тиотропия бромид (Спирива) – 18 мкг 1 раз в сутки; Формотерол + Будесонид (Форадил Комби) –

400 мкг / 12 мг 2 раза в сутки, а также парентеральная терапия антибактериальными препаратами. При поступлении и по завершении лечения проводилось спирометрическое обследование на аппарате "Мастер-Скрин" (E.Jaeger, Германия). Отклонение спирометрических параметров оценивалось по градации [7].

Содержание лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, а также сывороточные маркеры системного воспаления (С-реактивный белок – СРБ и т. п.) определялись по стандартным методикам в лаборатории СПб ГУЗ "Введенская городская клиническая больница".

Проводилась количественная оценка экспрессии генов ADRB2 и CHRM3 в лейкоцитах крови; мРНК выделялись из периферической крови методом селективной сорбции с помощью набора GeneJET RNA Purification Kit (Thermo Scientific, США), затем путем обратной транскрипции получали суммарные кДНК. Для синтеза кДНК использовался набор RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, США). Ген-специфическая амплификация этих мРНК осуществлялась в количественном варианте (полимеразная цепная реакция – ПЦР в реальном времени) при помощи прибора ICycler IQ5 (Bio-Rad, США) с применением флуоресцентных Taqman-зондов (см. таблицу). Для выполнения ПЦР использовалась ПЦР-смесь со стандартным набором реагентов "ПЦР-комплект" фирмы "Синтол" (Россия), в которую добавлялись указанные праймеры и флуоресцентные зонды. ПЦР проводилась по стандартной программе с 2-шаговым циклом (40 повторов), с денатурацией при 95° в течение 15 с, отжигом праймеров и элонгацией при 60° в течение 40 с.

Уровни экспрессии генов оценивались как соотношение значений порогового цикла (Ct) для целевых генов (ADRB2 и CHRM) и референс-гена GAPDH. Основным показателем при оценке результатов исследования было соотношение активности целевых генов (Ag) для ADRB2 и CHRM, определяемое по формуле:

Ag = 1 / Ct целевого гена / Ct референс-гена.

Таблица
Олигонуклеотиды, использованные в данном исследовании (условия ПЦР указаны в тексте)
Table
Oligonucleotides used in this study (PCR technique is described in the text)

Название генов	Последовательность олигонуклеотидов	Источник
ADRB2		S.Moniotte, 2001 [8]
Смысловой	5'-CCGAAAGTTCCCGTACGTCA-3'	
Антисмысловой	5'-CAGCCCGTGCTCTGAAGAA-3'	
Taqman-зонд	5'-FAM-TGCACATAACGGGCAGAACGCACT-BHQ1-3'	
CHRM3		Оригинал GenBank: X15266.1
Смысловой	5'-TCTACTCCATCGTGCTCAA-3'	
Антисмысловой	5'-TCTCCAAGTCCACCATCC-3'	
Taqman-зонд	5'-FAM-CGGGTACAGCACCATCCTCAACT-BHQ1-3'	
GAPDH		N.Patel, 2013 [9]
Смысловой	5'-AACCTGCCAAGTATGATGACATC-3'	
Антисмысловой	5'-GTAGCCCGAGGATGCCCTTGA-3'	
Taqman-зонд	5'-FAM-CTCCGACGCCTGCTTACCACCTTCT-BHQ1-3'	

Этот показатель использовался для реальной оценки повышения или понижения уровней специфического гена в индивидуальных образцах мРНК из лейкоцитов крови. Полученные ряды экспериментальных значений обрабатывались с применением корреляционного анализа (критерий Спирмена) и параметрической статистики (критерий Стьюдента) с помощью пакета программ *Statistica 6.0*.

Результаты и обсуждение

Средние значения экспрессионной активности целевых генов не различались достоверно в периоде до и после проведения бронхолитической терапии. Показатель ($M \pm m$) для ADRB2 составил $0,77 \pm 0,02$ и $0,78 \pm 0,03$; $0,77 \pm 0,02$ и $0,79 \pm 0,03$ – для CHRM3.

При сопоставлении результатов оценки количественной ПЦР исследованных генов обращает на себя внимание высокодостоверная корреляция между уровнями экспрессии изученных генов, в особенности между активностью генов ADRB2 и CHRM3 ($n = 52$; $r = 0,901$; $p < 10^{-20}$). Это свидетельствует об однонаправленной регуляции активности этих генов в лейкоцитах больных ХОБЛ. Аналогичная корреляция ($r = 0,89$; $p = 10^{-10}$) показана для соотношений до / после курса терапии обострения ХОБЛ.

Проводился корреляционный анализ полученных результатов в связи с клиническими и лабораторными показателями при значительной вариабельности индивидуальных результатов оценки генной активности. Так, при сопоставлении клинических и лабораторных параметров обнаружены взаимосвязи между уровнями экспрессии ADRB2 и изменениями содержания СРБ в сыворотке крови (рис. 1).

По предварительным результатам указывается на зависимость между понижением уровней экспрессии гена М-холинорецептора (CHRM3) и увеличе-

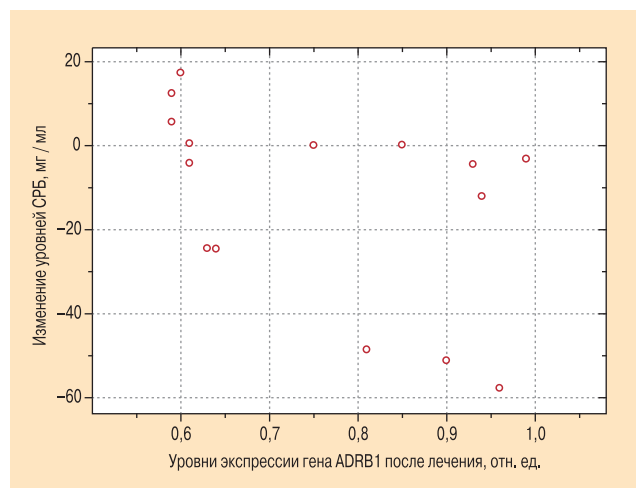


Рис. 1. Зависимость между изменениями уровней СРБ и величинами экспрессии мРНК ADRB2 после курса комплексной терапии адreno- и холинергическими препаратами ($n = 16$; $r = -0,63$; $p = 0,006$ по критерию Спирмена)

Figure 1. Relations between changes in the C-reactive protein level and mRNA ADRB2 expression after treatment with adrenergic and cholinergic medications ($n = 16$; $r = -0,63$; $p = 0,006$ according to Spearman's test)

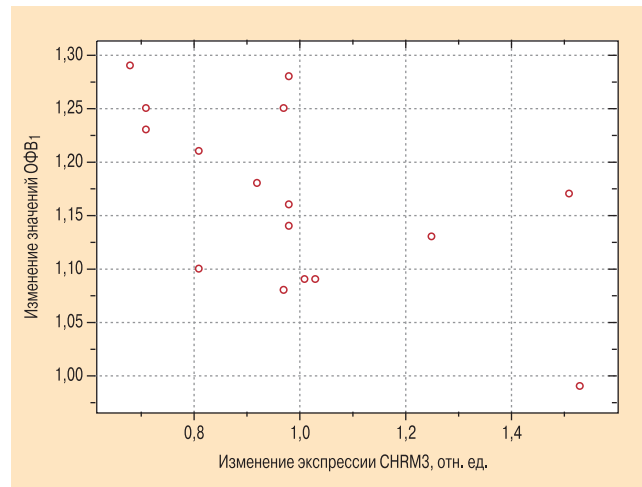


Рис. 2. Зависимость между изменениями уровней ОФВ₁ и величинами экспрессии мРНК CHRM3 после курса комплексной терапии адreno- и холинергическими препаратами ($n = 16$; $r = -0,662$; $p = 0,003$ по критерию Спирмена)

Figure 2. Relations between changes in FEV₁ and mRNA CHRM3 expression after treatment with adrenergic and cholinergic medications ($n = 16$; $r = -0,662$; $p = 0,003$ according to Spearman's test)

нием концентраций СРБ в процессе терапии обострения ХОБЛ ($n = 16$; $r = -0,60$; $p = 0,006$ по критерию Спирмена).

При сравнении данных до и после лечения показана высокодостоверная статистическая связь между увеличением объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁) и снижением экспрессии мРНК-холинорецептора в лейкоцитах крови после купирования обострения ХОБЛ (рис. 2). Аналогичная обратная корреляция обнаружена между изменением экспрессии гена β -адренорецептора ADRB2 и повышением значений ОФВ₁ после проведенного лечения при обострении ХОБЛ ($n = 16$; $r = -0,633$; $p = 0,004$). Таким образом, адекватный клинико-функциональный эффект препаратов сопровождается снижением экспрессии обоих изученных фармакогенов.

Об этом же свидетельствует и прямая корреляция между повышенной экспрессией ADRB2 в лейкоцитах и более высокими значениями клинического индекса MRC после завершения терапии, т. е. недостаточный клинический ответ сочетается с усилением экспрессии гена адренорецептора ($n = 20$; $r = 0,477$; $p = 0,017$).

Полученные данные свидетельствуют о координированном ответе ADRB2 и CHRM3 у пациентов с ХОБЛ на фоне медикаментозной терапии; еще раз подтверждается и преимущество комбинированной бронхолитической терапии, способствующей улучшению клинико-функциональных показателей, уменьшению маркеров системного воспаления (СРБ и т. п.), коррелирующих со снижением экспрессии этих генов в лейкоцитах.

Известно, что ингаляционная терапия β_2 -агонистами адренорецепторов и М-холинорецепторными препаратами сопровождается существенными внелегочными эффектами на сердечно-сосудистую систему и клетки циркулирующей крови [10, 11],

что может повлиять на уровень экспрессии адрено- и холинорецепторов в периферических лейкоцитах.

Важным результатом исследования является оптимизация методик оценки экспрессии генов ADRB2 и CHRM3 для мРНК, выделенных из лейкоцитов периферической крови. Уровни экспрессии мРНК для 2 указанных генов не коррелировали с содержанием основных лейкоцитарных популяций в периферической крови пациентов, поэтому при стандартизации уровней экспрессии целевых генов по уровням мРНК референс-гена (GAPDH) нормализовались ее индивидуальные значения.

Средние уровни мРНК ADRB2 и CHRM3 не различались в периоде до и после проведения комбинированной терапии адрено- и холинолитическими препаратами с добавлением антибактериальной терапии, что может свидетельствовать об активности целевых фармакогенов у больных ХОБЛ не только в период обострения, но и на этапе стабильного течения заболевания, также требующего проведения бронхолитической терапии.

Важная функция препаратов-агонистов адренорецепторов связана с их противовоспалительным действием, которое реализуется через ингибирование экспрессии адренорецепторов на иммунных клетках-нейтрофилах, эозинофилах и лимфоцитах [12]. При длительном применении адренергических препаратов может снизиться число адренорецепторов [13].

Показана корреляция между повышенной экспрессией мРНК гена ADRB2 и снижением содержания СРБ после терапии, что соответствует противовоспалительному эффекту от проведенного лечения. Обратные взаимосвязи обнаружены между экспрессией гена CHRM3 в лейкоцитах и уровнями СРБ. Существенное влияние на рецепторы лейкоцитов оказывают также ГКС, применяемые в данном лечебном протоколе. Как известно, при ингаляциях комбинированных бронхолитических препаратов значительная часть ГКС попадает в кровоток, оказывая таким образом системные эффекты на лейкоциты [14, 15].

В ряде исследований показано, что при длительном применении ГКС повышается экспрессия β_2 -адренорецепторов путем усиления транскрипции гена ADRB2. При этом сенсibiliзируются β -рецепторы дыхательных путей, что поддерживает бронходилатационный эффект β -агонистов длительного действия [16]. Под влиянием ГКС снижается уровень β -аррестина-2 (фактор, инактивирующий β_2 -адренорецепторы), что приводит к более выраженной и длительной релаксации гладкомышечных клеток дыхательных путей [17]. Таким образом, при совместном применении бронхолитических препаратов обоих классов на фоне ингаляционной терапии взаимно усиливается двойной терапевтический эффект (как противовоспалительный, так и бронходилатационный), что соответствует современным представлениям об эффективности сочетанного применения бронхолитических препаратов у больных ХОБЛ.

Что касается локальной экспрессии генов М-холинорецепторов, то в работе [18] показано, что

в слизистой оболочке бронхов у больных ХОБЛ экспрессия мРНК CHRM3 была существенно ниже у лиц с ХОБЛ по сравнению с пациентами с бронхиальной астмой, а экспрессия генов М3-холинорецепторов была значительно выше у больных ХОБЛ с гиперреактивностью бронхов, чем в остальных случаях ХОБЛ. Вероятно, у пациентов с обратимой обструкцией имеется более высокий уровень экспрессии генов М3-холинорецепторов, что подтверждается в современных работах на тему необходимости применения холинолитических препаратов у больных с определенными фенотипами бронхиальной астмы [19]. При снижении уровней мРНК CHRM3 в лейкоцитах крови после комбинированной терапии отражается специфический бронходилатационный эффект препарата, о чем свидетельствует увеличение показателей ОФВ₁ при снижении экспрессии CHRM3 под влиянием холинолитических препаратов. Это согласуется с представлениями о механизме действия ипратропия или тиотропия бромида — блокадой М-холинорецепторов и связанными с этим лечебными эффектами (расширение бронхов и снижение секреции слизи) ввиду редукции холинергического тонуса. Антимускариновые препараты оказались эффективными в лечении бронхообструктивных заболеваний. В случае назначения как ингаляционных ГКС, так и β -агонистов усиливается аддитивный эффект, проявляющийся в подавлении экспрессии М-холинорецепторов в дыхательных путях [20]. Следовательно, препараты в данном сочетании имеют односторонний механизм действия, оптимизируя функции холинорецепторов, что способствует достижению более выраженного клинического эффекта у больных с бронхиальной обструкцией, в т. ч. ХОБЛ.

Заключение

Таким образом, индивидуальные уровни экспрессии в лейкоцитах периферической крови генов холино- и адренорецепторов, актуальных для ответа на бронхолитическую терапию при лечении обострений ХОБЛ, связаны с изменениями клинико-функциональных показателей ОФВ₁, степени одышки и биомаркеров воспаления (СРБ), отражающих тяжесть обострения патологического процесса, а также эффективность его лечения.

Необходимы дальнейшие исследования, направленные на выявление механизмов регуляции и активации фармакогенов при комбинированной терапии с применением ингаляционных ГКС и оценка клинико-прогностической ценности анализа экспрессии данных генов при ХОБЛ.

Литература

1. Чучалин А.Г., Айсанов З.Р., Авдеев С.Н. и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению хронической обструктивной болезни легких. М.: Российское респираторное общество; 2013.
2. Dale Ph.R., Cernecka H., Schmidt M. et al. The pharmacological rationale for combining muscarinic receptor

- antagonists and β -adrenoceptor agonists in the treatment of airway and bladder disease. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2014; 16: 31–42.
3. Огородова Л.М., Черняк Б.А., Козина О.В. и др. Молекулярно-генетические аспекты различных фенотипов хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы. *Пульмонология*. 2013; 1: 5–11.
 4. Kin N.W., Sanders V.M. It takes nerve to tell T and B cells what to do. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 79 (6): 1093–1104.
 5. Yu X.Y., Lin S.G., Wang X.M. et al. Evidence for coexistence of three β -adrenoceptor subtypes in human peripheral lymphocytes. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2007; 81 (5): 654–658.
 6. Fujii T., Takada-Takatori Y., Kawashima K. Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: expression of an independent, non-neuronal cholinergic system in lymphocytes and its clinical significance in immunotherapy. *J. Pharmacol. Sci.* 2008; 106 (2): 186–192.
 7. Клемент Р.Ф., Лаврушин А.А., Тер-Погосян П.А. Инструкция по применению формул и таблиц должных величин основных спирографических показателей. Л.; 1986.
 8. Moniotte S., Vaerman J.L., Kockx M.M. et al. Real-time RT-PCR for the detection of beta-adrenoceptor messenger RNAs in small human endomyocardial biopsies. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2001; 33 (12): 2121–2133.
 9. Patel N., Itakura T., Gonzalez J.M. Jr et al. GPR158, an orphan member of G protein-coupled receptor family C: glucocorticoid-stimulated expression and novel nuclear role. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e57843. DOI: 10.1371/journal.pone.0057843.
 10. Braden G.L., Germain M.J., Mulhern J.G. et al. Hemodynamic, cardiac, and electrolyte effects of low-dose aerosolized terbutaline sulfate in asthmatic patients. *Chest*. 1998; 114 (2): 380–387.
 11. Bjermer L., Bengtsson Th., Jorup C. et al. Local and systemic effects of inhaled AZD9164 compared with tiotropium in patients with COPD. *Respir. Med.* 2013; 107 (1): 84–90.
 12. Theron A.J., Steel H.C., Tintinger G.R. et al. Can the anti-inflammatory activities of β_2 -agonists be harnessed in the clinical setting? *Drug Des. Devel. Ther.* 2013; 7: 1387–1398.
 13. Black J.L., Oliver B.G.G., Roth M. Molecular mechanisms of combination therapy with inhaled corticosteroids and long-acting β -agonists. *Chest*. 2009; 136 (4): 1095–1100.
 14. Dalby Ch., Polanowski T., Larsson Th. et al. The bioavailability and airway clearance of the steroid component of budesonide / formoterol and salmeterol / fluticasone after inhaled administration in patients with COPD and healthy subjects: a randomized controlled trial. *Respir. Res.* 2009; 10: 104. DOI: 10.1186/1465-9921-10-104.
 15. Rüdiger J.J., Gencay M., Yang J.Q. et al. Fast beneficial systemic anti-inflammatory effects of inhaled budesonide and formoterol on circulating lymphocytes in asthma. *Respirology*. 2013; 18 (5): 840–847.
 16. Barnes P.J. Scientific rationale for inhaled combination therapy with long-acting β_2 -agonists and corticosteroids. *Eur. Respir. J.* 2002; 19 (1): 182–191.
 17. Oakley R.H., Cidlowski J.A. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132 (5): 1033–1044.
 18. Selivanova P.A., Kulikov E.S., Kozina O.V. et al. Differential expression of the β_2 -adrenoreceptor and M3-cholinergic receptor genes in bronchial mucosa of patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2012; 108 (1): 39–43.
 19. Kerstjens H.A.M., Engel M., Dahl R. et al. Tiotropium in asthma poorly controlled with standard combination therapy. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (13): 1198–1207.
 20. Gosens R., Zaagsma J., Meurs H. et al. Muscarinic receptor signaling in the pathophysiology of asthma and COPD. *Respir. Res.* 2006; 7: 73.

Поступила 05.02.15

УДК 616.24-036.12-07:616.155.392-092

References

1. Chuchalin A.G., Avdeev S.N., Aysanov Z.R. et al. Federal guidelines on diagnosis and management of chronic obstructive pulmonary disease. Moscow: Rossiyskoe respiratornoe obshchestvo; 2013 (in Russian).
2. Dale Ph.R., Cernecka H., Schmidt M. et al. The pharmacological rationale for combining muscarinic receptor antagonists and β -adrenoceptor agonists in the treatment of airway and bladder disease. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2014; 16: 31–42.
3. Ogorodova L.M., Chernyak B.A., Kozina O.V. et al. Molecular aspects of different phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease. *Pul'monologiya*. 2013; 1: 5–11 (in Russian).
4. Kin N.W., Sanders V.M. It takes nerve to tell T and B cells what to do. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 79 (6): 1093–1104.
5. Yu X.Y., Lin S.G., Wang X.M. et al. Evidence for coexistence of three β -adrenoceptor subtypes in human peripheral lymphocytes. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2007; 81 (5): 654–658.
6. Fujii T., Takada-Takatori Y., Kawashima K. Basic and clinical aspects of non-neuronal acetylcholine: expression of an independent, non-neuronal cholinergic system in lymphocytes and its clinical significance in immunotherapy. *J. Pharmacol. Sci.* 2008; 106 (2): 186–192.
7. Klement R.F., Lavrushin A.A., Ter-Pogosyan P.A. User guide on formulas and tables of reference values for general spirometric parameters. Leningrad; 1986 (in Russian).
8. Moniotte S., Vaerman J.L., Kockx M.M. et al. Real-time RT-PCR for the detection of beta-adrenoceptor messenger RNAs in small human endomyocardial biopsies. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2001; 33 (12): 2121–2133.
9. Patel N., Itakura T., Gonzalez J.M. Jr et al. GPR158, an orphan member of G protein-coupled receptor family C: glucocorticoid-stimulated expression and novel nuclear role. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e57843. DOI: 10.1371/journal.pone.0057843.
10. Braden G.L., Germain M.J., Mulhern J.G. et al. Hemodynamic, cardiac, and electrolyte effects of low-dose aerosolized terbutaline sulfate in asthmatic patients. *Chest*. 1998; 114 (2): 380–387.
11. Bjermer L., Bengtsson Th., Jorup C. et al. Local and systemic effects of inhaled AZD9164 compared with tiotropium in patients with COPD. *Respir. Med.* 2013; 107 (1): 84–90.
12. Theron A.J., Steel H.C., Tintinger G.R. et al. Can the anti-inflammatory activities of β_2 -agonists be harnessed in the clinical setting? *Drug Des. Devel. Ther.* 2013; 7: 1387–1398.
13. Black J.L., Oliver B.G.G., Roth M. Molecular mechanisms of combination therapy with inhaled corticosteroids and long-acting β -agonists. *Chest*. 2009; 136 (4): 1095–1100.
14. Dalby Ch., Polanowski T., Larsson Th. et al. The bioavailability and airway clearance of the steroid component of

- budesonide / formoterol and salmeterol / fluticasone after inhaled administration in patients with COPD and healthy subjects: a randomized controlled trial. *Respir. Res.* 2009; 10: 104. DOI: 10.1186/1465-9921-10-104.
15. Rüdiger J.J., Gencay M., Yang J.Q. et al. Fast beneficial systemic anti-inflammatory effects of inhaled budesonide and formoterol on circulating lymphocytes in asthma. *Respirology*. 2013; 18 (5): 840–847.
 16. Barnes P.J. Scientific rationale for inhaled combination therapy with long-acting β_2 -agonists and corticosteroids. *Eur. Respir. J.* 2002; 19 (1): 182–191.
 17. Oakley R.H., Cidlowski J.A. The biology of the glucocorticoid receptor: new signaling mechanisms in health and disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013; 132 (5): 1033–1044.
 18. Selivanova P.A., Kulikov E.S., Kozina O.V. et al. Differential expression of the β_2 -adrenoreceptor and M3-cholinoreceptor genes in bronchial mucosa of patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2012; 108 (1): 39–43.
 19. Kerstjens H.A.M., Engel M., Dahl R. et al. Tiotropium in asthma poorly controlled with standard combination therapy. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (13): 1198–1207.
 20. Gosens R., Zaagsma J., Meurs H. et al. Muscarinic receptor signaling in the pathophysiology of asthma and COPD. *Respir. Res.* 2006; 7: 73.

Received Februar 05, 2015

UDC 616.24-036.12-07:616.155.392-092

Информация об авторах

Чухловин Алексей Борисович – д. м. н., профессор, зам. директора НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ГБОУ ВПО "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова" Минздрава России; тел.: (812) 233-48-51; e-mail: alexei.chukh@mail.ru

Кузубова Наталья Анатольевна – д. м. н., зам. директора НИИ пульмонологии ГБОУ ВПО "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова" Минздрава России; тел.: (812) 234-17-69; e-mail: kuzubova@mail.ru

Елшин Никита Дмитриевич – аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова" Минздрава России; тел. / факс: (812) 233-97-26; e-mail: nikita.yolshin@gmail.com

Титова Ольга Николаевна – д. м. н., директор НИИ пульмонологии ГБОУ ВПО "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова" Минздрава России; тел.: (812) 499-68-40; e-mail: pulmorg@mail.ru

Author information

Chukhlovin Aleksey Borisovich, MD, Professor, Deputy Director, R.M.Gorbacheva Scientific and Research Institute of Pediatric Oncology, Haematology and Transplantology, State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 233-48-51; e-mail: alexei.chukh@mail.ru

Kuzubova Natal'ya Anatol'evna, MD, Professor, Deputy Director, Scientific and Research Pulmonology Institute, State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 234-17-69; e-mail: kuzubova@mail.ru

Elshin Nikita Dmitrievich, PhD student, Department of Clinical and Laboratory Diagnostics, State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel. / fax: (812) 233-97-26; e-mail: nikita.yolshin@gmail.com

Titova Ol'ga Nikolaevna, MD, Director, Scientific and Research Pulmonology Institute, State Institution "Academician I.P.Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University", Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 499-68-40; e-mail: pulmorg@mail.ru