

Противовоспалительный и регенеративный эффект подавления гипоксического сигналинга на модели хронической обструктивной болезни легких

О.Н.Титова¹, Н.А.Кузубова¹, Е.С.Лебедева¹, Е.А.Суркова¹, Т.Н.Преображенская^{2,3}, И.В.Двораковская¹

1 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8;

2 – Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6;

3 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

Информация об авторах

Титова Ольга Николаевна – д. м. н., директор Научно-исследовательского института пульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-78-40; e-mail: titova-on@mail.ru

Кузубова Наталия Анатольевна – д. м. н., заместитель директора Научно-исследовательского института пульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-66-16; e-mail: kuzubova@mail.ru

Лебедева Елена Сергеевна – к. б. н., ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского института пульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-78-20; e-mail: osmelena@mail.ru

Суркова Елена Аркадьевна – к. б. н., старший научный сотрудник Научно-методического центра по молекулярной медицине Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-78-20; e-mail: easurkova@mail.ru

Преображенская Татьяна Николаевна – к. б. н., доцент Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, доцент Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации; тел.: (812) 292-33-31; e-mail: tanapp@yandex.ru

Двораковская Иветта Владиславовна – д. м. н., ведущий научный сотрудник Научно-исследовательского института пульмонологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; тел.: (812) 338-78-90; e-mail: i_dvorakovskaya@mail.ru

Резюме

Цель. Оценка противовоспалительного и регенеративного эффекта предотвращения активации гипоксического сигналинга на модели хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) путем ингибирования циклооксигеназы-2 (COX-2)-зависимого провоспалительного каскада. **Материалы и методы.** При помощи экспозиций диоксидом азота (NO₂ 30–40 мг / м³) в течение 90 дней у крыс создана модель ХОБЛ. В качестве ингибитора COX-2 применялся цецекоксиб. С 30-го дня крысам 1-й группы через пищеводный зонд вводился цецекоксиб (25 мг / кг); животные 2-й группы (контроль) получали 0,9%-ный NaCl. Интактные крысы составили 3-ю группу. Животные выводились из опыта после 60 и 90 дней экспозиции NO₂ путем цервикальной дислокации. При этом выполнялась цитография бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), определялось содержание COX-2, гипоксия-индуцибельного фактора-1α (HIF-1α), интерлейкина (IL)-17, сурфактантного протеина D (SP-D) методом ELISA. Выполнено гистологическое исследование легочной ткани. **Результаты.** Показано, что после 90-дневной экспозиции NO₂ в БАЛЖ контрольных особей содержание нейтрофилов в 7,7 раза превышало интактное значение. Достоверно возрастало содержание провоспалительных медиаторов COX-2, HIF-1α, IL-17, а уровень SP-D снижался. Применение цецекоксиба сопровождалось нормализацией цитологического профиля БАЛЖ и уменьшением содержания COX-2, HIF-1α, IL-17, что свидетельствовало о снижении активности гипоксического сигналинга и воспалительного процесса. Значительно возрастала концентрация SP-D, что можно рассматривать как следствие восстановления морфологической структуры бронхоальвеолярного эпителия, о чем свидетельствовали данные гистологического исследования легочной ткани. **Заключение.** При ингибировании COX-2 отмечен супрессивный эффект на HIF-1α-сигналинг и уменьшение легочного воспаления. Полученные результаты подтверждают функционально-регуляторную связь HIF-1α и COX-2-сигнальных каскадов, которая может быть терапевтической мишенью для предотвращения прогрессирования воспаления и ремоделирования дыхательных путей при ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, воспаление, гипоксия-индуцибельный фактор-1α, циклооксигеназа-2, интерлейкин-17, сурфактантный протеин D, цецекоксиб.

Для цитирования: Титова О.Н., Кузубова Н.А., Лебедева Е.С., Суркова Е.А., Преображенская Т.Н., Двораковская И.В. Противовоспалительный и регенеративный эффект подавления гипоксического сигналинга на модели хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология*. 2018; 28 (2): 169–176. DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-2-169-176

Anti-inflammatory and regenerative effects of hypoxic signaling inhibition in a model of COPD

Ol'ga N. Titova¹, Ol'ga N. Kuzubova¹, Elena S. Lebedeva¹, Elena A. Surkova¹, Tat'yana N. Preobrazhenskaya^{1,3}, Ivetta V. Dvorakovskaya¹

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

2 – S.M.Kirov Federal Military Medical Academy, Ministry of Defense of Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia: ul. Akademika Lebedeva 6, Saint-Petersburg, 194044, Russia;

3 – Saint-Petersburg Federal State University: Universitetskaya naberezhnaya 7–9, Saint-Petersburg, 199034, Russia

Author information

Ol'ga N. Titova, Doctor of Medicine, Director of Pulmonology Research Institute, Academician I.P.Pavlov First Federal Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-40; e-mail: titova-on@mail.ru

Ol'ga N. Kuzubova, Doctor of Medicine, Professor, Deputy Director, Pulmonology Research Institute, Academician I.P.Pavlov First Federal Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-66-16; e-mail: kuzubova@mail.ru

Elena S. Lebedeva, Candidate of Biology, Leading Researcher, Pulmonology Research Institute, Academician I.P.Pavlov First Federal Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-20; e-mail: osmelena@mail.ru

Elena A. Surkova, Candidate of Biology, Senior Researcher, Research Center for Molecular Medicine, Academician I. P. Pavlov First Federal Saint Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-20; e-mail: easurkova@mail.ru

Tat'yana N. Preobrazhenskaya, Candidate of Biology, Associate Professor, S.M.Kirov Federal Military Medical Academy, Ministry of Defense of Russian Federation; Associate Professor, Saint-Petersburg Federal State University; Ministry of Education and Sciences of Russian Federation; tel.: (812) 292-33-31; e-mail: tanapp@yandex.ru

Ivetta V. Dvorakovskaya, Doctor of Medicine, Chief Scientist at Laboratory of Pathomorphology, Research Pulmonology Institute, Academician I.P.Pavlov First Federal Saint-Petersburg State Medical University, Healthcare Ministry of Russia; tel.: (812) 338-78-90; e-mail: i_dvorakovskaya@mail.ru

Abstract

The aim of this study was to investigate anti-inflammatory and regenerative effects of inhibited activation of hypoxic signaling in COPD model using cyclooxygenase-2 (COX-2)-dependent pro-inflammatory cascade inhibition. **Methods.** COPD was modelled in rats by nitrogen dioxide (NO₂, 30–40 mg×m⁻³) exposure for 90 days. Celecoxib was used as COX-2 inhibitor. The study group rats were given celecoxib (25 mg×m⁻³) through an esophageal probe after 30 days of exposure. Control rats were given saline solution. The group 3 rats were intact. The rats were put out of the experience using cervical dislocation after 60 and 90 days of NO₂ exposure. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cytology was analyzed. COX-2, hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α), interleukin-17 (IL-17), and surfactant protein D (SP-D) were measured in BALF using ELISA method. Histological examination of the lung tissue was also performed. **Results.** 90-day exposure of NO₂ resulted in 7.7-fold increase in BALF neutrophil count compared to that in intact rats. Pro-inflammatory mediators (COX-2, HIF-1α, and IL-17) significantly increased and SP-D level decreased in BALF. Administration of celecoxib was accompanied by normalization of BALF cytology profile and decrease in COX-2, HIF-1α, and IL-17 levels in BALF; this could indicate a reduction in the hypoxic signaling activity and in inflammation. The growth of SP-D concentration could be considered as a result of the alveolar epithelium restoration. This was confirmed by histological examination of the lung tissue. **Conclusion.** COX-2 inhibition suppressed HIF-1α-signaling and decreased the lung inflammation. The results confirm a functional and regulatory relationship between HIF-1α and COX-2 signaling cascades that could be a therapeutic target for preventing the progression of inflammation and airway remodeling in COPD.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, inflammation, hypoxia-inducible factor-1α, cyclooxygenase-2, interleukin-17, surfactant protein D, celecoxib.

For citation: Titova O.N., Kuzubova N.A., Lebedeva, E.S., Surkova E.A., Preobrazhenskaya T.N., Dvorakovskaya I.V. Anti-inflammatory and regenerative effects of hypoxic signaling inhibition in a model of COPD. *Russian Pulmonology*. 2018; 28 (2): 169–176 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2018-28-2-169-176

Одним из ключевых факторов развития и прогрессирования хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) является гипоксия-индуцибельный фактор-1 (HIF-1), транскрипционная активность которого связана с экспрессией гипоксия-зависимых генов, многих провоспалительных факторов и генов, вовлеченных в ремоделирование дыхательных путей, ангиогенез и энергетический метаболизм [1, 2]. Повышенные уровни HIF-1α определяются в сыворотке крови и легочной ткани пациентов с ХОБЛ и курильщиков с нормальной легочной функцией [3]. Воспаленная слизистая бронхов представляет собой гипоксическую среду, для которой характерно увеличение экспрессии HIF-1 [1, 4]. Активация HIF-1 подавляет врожденные иммунные механизмы защиты, присущие клеткам бронхоальвеолярного эпителия [5], усиливает апоптоз альвеолоцитов 2-го типа, препятствуя заживлению эпителия после повреждения, изменяет профиль геной экспрессии альвеолоцитов 2-го типа и угнетает экспрессию сурфактантных протеинов [6]. Для хронического воспаления характерно усиление экспрессии индуцибельной циклооксигеназы-2 (COX-2) – фермента, катализирующего превращение арахидоновой кислоты в простагландины (Pg), в частности провоспалительный PgE₂. Имеется

предположение о функциональной связи HIF-1α и COX-2-сигнальных каскадов, обеспечивающих интеграцию воспалительных и гипоксических регуляторных механизмов в патогенезе заболеваний дыхательных путей [7, 8].

Целью исследования явилась оценка противовоспалительного и регенеративного эффекта предотвращения активации гипоксического сигналинга на модели ХОБЛ путем ингибирования COX-2-зависимого провоспалительного каскада посредством терапии с использованием селективного блокатора COX-2.

Материалы и методы

Опыты выполнены на крысах-самцах линии Вистар (Федеральное государственное унитарное предприятие «Питомник лабораторных животных “Рапполово”») массой 150–170 г. Исследования проводились в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23.08.10 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики». Модель формирования ХОБЛ воспроизводилась с помощью ингаляционного воздействия 30–40 мг / м³ диоксида азота (NO₂) [9]. Ингаляции проводились в прерывистом режиме (3 экспозиции в день по 30 мин с интервалом

30 мин между ними) на протяжении 90 дней. После 30 дней воздействия NO₂ животные ($n = 36$) были разделены случайным образом на 2 группы по 18 особей в каждой. Ежедневно в течение последующих дней (перед каждой экспозицией NO₂) животным 1-й группы через пищеводный зонд вводился высокоселективный ингибитор СОХ-2 целекоксиб (*Celebrex, Pfizer*, Германия) в дозе 25 мг / кг. Доза рассчитывалась, исходя из суточной дозы, рекомендованной для человека, с учетом межвидового пересчета. Животным 2-й (контрольной) группы аналогичным способом вводился 0,9%-ный раствор натрия хлорида. После 60 и 90 дней экспозиции NO₂ из каждой группы выводились из опыта по 9 особей. Интактную группу составили 11 особей. Эвтаназия осуществлялась методом цервикальной дислокации.

Бронхоальвеолярный лаваж выполнялся на изолированных легких стерильным физиологическим раствором (35–37 °С). Бронхоальвеолярная лаважная жидкость (БАЛЖ) собиралась в силиконизированные пробирки; после центрифугирования определялось общее и дифференциальное содержание клеток в 1,0 мл. В пробах БАЛЖ определялось содержание СОХ-2, HIF-1 α , интерлейкина-17 (IL-17) и сурфактантного протеина D (SP-D) методом иммуноферментного анализа ELISA с использованием видоспецифичных коммерческих тест-систем *Cusabio Biotech* (*Cusabio Biotech*, Китай). Для гистологических исследований легкие расправлялись введением через трахею 10%-го раствора формальдегида. Материал заключался в парафин, срезы толщиной 5–7 мкм окрашивались гематоксилином-эозином и по ван Гизону.

Статистическая обработка выполнялась с помощью пакета программ *Statistica 6.0 (Windows)* с применением критерия достоверности Стьюдента. Количественные данные представлены как среднее \pm ошибка среднего ($M \pm m$). Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Вдыхание пневмотоксиканта NO₂, являющегося важным компонентом сигаретного дыма, активирует эпителиальные клетки бронхов, либо непосред-

венно воздействуя на рецепторы распознавания, такие как *Toll*-подобные рецепторы, либо опосредовано — через выделение молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (DAMP) [10]. Активированные бронхиальные эпителиоциты реализуют провоспалительные цитокины и хемокины, которые рекрутируют в бронхоальвеолярное пространство клетки воспаления. После 60-дневной экспозиции NO₂ содержание нейтрофилов и лимфоцитов в БАЛЖ контрольных крыс превышало таковое в интактной группе соответственно в 4,3 и 1,8 раза (табл. 1). После 90-дневной экспозиции NO₂ цитограмма БАЛЖ характеризовалась еще большим сдвигом в сторону нейтрофилов, содержание которых в 7,7 раза превышало интактное значение, а содержание макрофагов снижалось в 2 раза по сравнению с нормой (см. табл. 1). Отмеченные изменения цитологического профиля БАЛЖ свидетельствовали о прогрессирующем воспалительном процессе в легочной ткани, что подтверждалось результатами морфологического исследования (рис. 1А).

Под влиянием провоспалительных цитокинов и факторов роста в очаге воспаления различными типами клеток (моноклеарными лейкоцитами, фибробластами, гладкомышечными и эндотелиальными клетками сосудов) индуцируется синтез СОХ-2. После 60-дневной экспозиции NO₂ содержание СОХ-2 в БАЛЖ контрольных крыс в 1,7 раза превышало значение в интактной группе ($p < 0,05$) и оставалось на высоком уровне при увеличении экспозиции до 90 дней (табл. 2). Содержание HIF-1 α в БАЛЖ крыс контрольной группы после 60 дней почти в 3 раза превышало интактное значение (см. табл. 2). При увеличении экспозиции до 90 дней наблюдалась тенденция к дальнейшему возрастанию уровня HIF-1 α (см. табл. 2). Концентрация в БАЛЖ контрольных крыс провоспалительного цитокина IL-17, основным продуцентом которого являются CD4⁺Th17-клетки и в меньшей степени — нейтрофилы и CD8⁺Th17-клетки [11], в 1,5 раза превышала интактное значение при всех сроках экспозиции O₂ ($p < 0,05$) (см. табл. 2). На фоне активации воспалительного процесса снижение в БАЛЖ содержания SP-D, являющегося компонентом врожденной эпителиальной иммунной защиты, составило в контро-

Таблица 1
Влияние ингибирования циклооксигеназы-2 на клеточный состав бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс после 60- и 90-дневной экспозиции диоксидом азота ($M \pm m$)

Table 1
An inhibiting effect of COX-2 on cell count of bronchoalveolar lavage fluid in rats after 60 and 90 days of NO₂ exposure ($M \pm m$)

Показатель, %	Интактная группа	60 дней NO ₂ (контроль)	60 дней NO ₂ + целекоксиб	90 дней NO ₂ (контроль)	90 дней NO ₂ + целекоксиб
Макрофаги	85,7 \pm 1,9	57,8 \pm 6,8*	86,4 \pm 2,3**	43,8 \pm 5,8 [#]	79,0 \pm 3,3 ^{##}
Нейтрофилы	5,2 \pm 0,5	25,8 \pm 6,2*	6,8 \pm 0,8**	40,2 \pm 4,7 [#]	10,2 \pm 2,3 ^{##}
Лимфоциты	9,1 \pm 1,9	16,5 \pm 2,1*	6,8 \pm 0,9**	16,0 \pm 3,4*	10,8 \pm 0,7

Примечание: различие достоверно ($p < 0,05$): * — с интактной группой; ** — с группой «60 дней NO₂»; # — с группой «60 дней NO₂» + целекоксиб; ## — с группой «90 дней NO₂».

Notes. A difference was statistically significant if $p < 0.05$: *, compared to intact rats; **, compared to rats with 60-day exposure of NO₂; #, compared to rats with 60-day exposure of NO₂ + celecoxib; ##, compared to rats with 90-day exposure of NO₂.

Таблица 2
Влияние ингибирования циклооксигеназы-2 на иммуноферментный профиль бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс после 60- и 90-дневной экспозиции диоксидом азота ($M \pm m$)

Table 2
An inhibiting effect of COX-2 on immunoenzyme profile of bronchoalveolar lavage fluid in rats after 60 and 90 days of NO₂ exposure ($M \pm m$)

Показатель, пг / мл	Интактная группа	60 дней NO ₂ (контроль)	60 дней NO ₂ + целекоксиб	90 дней NO ₂ (контроль)	90 дней NO ₂ + целекоксиб
COX-2	15,86 ± 1,35	26,53 ± 2,30*	18,83 ± 2,19**	24,34 ± 1,98*	8,22 ± 1,98*.#
HIF-1α	0,59 ± 0,09	1,58 ± 0,44*	0,43 ± 0,11**	1,98 ± 0,21*	0,37 ± 0,04*.#
IL-17	71,58 ± 6,79	100,77 ± 7,40*	56,83 ± 11,87**	110,74 ± 9,48*	49,92 ± 8,19*.#
SP-D	83,67 ± 7,96	55,25 ± 8,21*	142,97 ± 8,75**	61,82 ± 4,87*	143,63 ± 10,17*.#

Примечание: COX-2 – циклооксигеназа-2; HIF-1α – гипоксия-индуцибельный фактор-1α; IL-17 – интерлейкин-17; SP-D – сурфактантный белок D; различие достоверно ($p < 0,05$);

* – с интактной группой; ** – с группой «60 дней NO₂»; # – с группой «90 дней NO₂».

Notes. A difference was statistically significant if $p < 0.05$: *, compared to intact rats; **, compared to rats with 60-day exposure of NO₂; #, compared to rats with 90-day exposure of NO₂.

ле около 30 % от уровня интактной группы после 60 и 90 дней воздействия NO₂ ($p < 0,05$) (см. табл. 2), что могло быть связано с повреждением легочного эпителия, апоптозом секретирующих SP-D альвеолоцитов 2-го типа и нециллиарных клеток бронхиол (клеток Клара) и «утечкой» SP-D в системный кровоток [12].

В группах крыс, получавших ингибитор COX-2 целекоксиб, отмечалась отчетливая тенденция к нормализации цитологического профиля БАЛЖ: содержание нейтрофилов и лимфоцитов снижалось по сравнению с контролем и не отличалось от интактных значений, нормализовалось содержание альвеолярных макрофагов (см. табл. 1). В результате применения ингибитора COX-2 концентрации COX-2, HIF-1 и IL-17 в БАЛЖ к 60-му дню экспозиции NO₂ снижались до значений, достоверно не отличавшихся от интактной группы (см. табл. 2). Более длительное применение целекоксиба (90 дней) сопровождалось еще более выраженным снижением этих показателей (см. табл. 2). Значительно возрастало содержание SP-D в БАЛЖ, превысив примерно в 3 раза значения в контрольной группе ($p < 0,05$) и в 2 раза – интактный уровень ($p < 0,05$) (см. табл. 2).

Таким образом, применение ингибитора COX-2 целекоксиба позволило предупредить прогрессирование воспалительного процесса в легких, отражением чего явилось снижение притока нейтрофилов и лимфоцитов в бронхоальвеолярное пространство и уменьшение содержания в БАЛЖ провоспалительных медиаторов (COX-2, IL-17, HIF-1). Значительное увеличение концентрации SP-D в БАЛЖ в условиях уменьшения воспаления и нормализации клеточно-молекулярного окружения могло свидетельствовать о восстановлении морфофункциональной целостности бронхоальвеолярного эпителия и активации секреторной деятельности альвеолоцитов 2-го типа. По результатам морфологического исследования препаратов легочной ткани крыс, получавших целекоксиб, показано восстановление структуры бронхиального эпителия и отсутствие клеточной инфильтрации межальвеолярных перегородок (рис. 1).

Нейтрофильно-лимфоцитарное воспаление, развивающееся под влиянием 60- и 90-дневного воздействия диоксида азота, является характерным признаком ХОБЛ. В привлечении нейтрофилов в дыхательные пути участвует опосредованный IL-17A

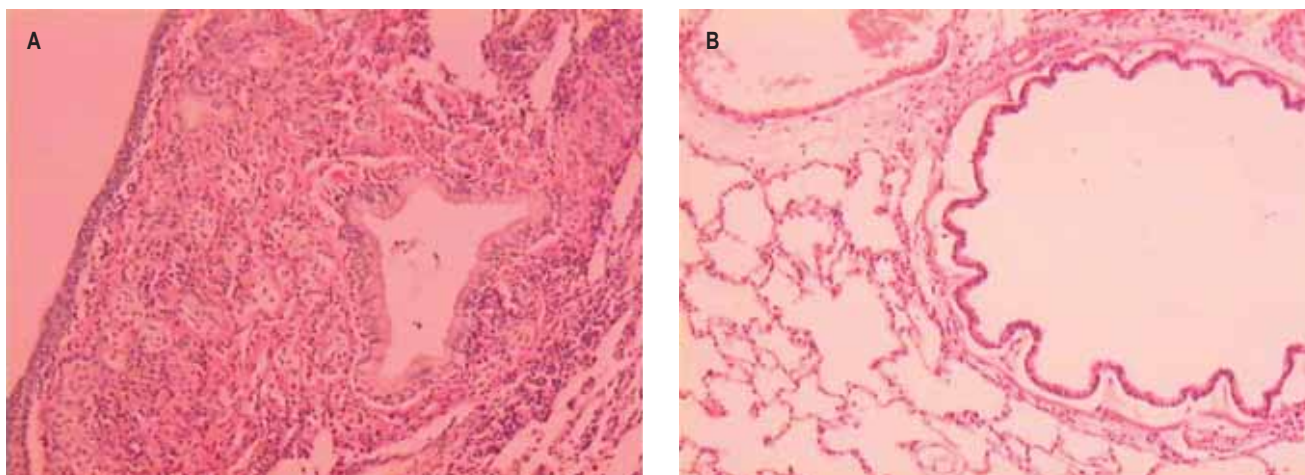


Рис. 1. Модель хронической обструктивной болезни легких (90 дней воздействия NO₂): выраженная лимфоцитарная инфильтрация, просветы альвеол заполнены макрофагами и слущенными альвеолоцитами. Бронхиальный эпителий слизеобразующий
Figure 1. A model of chronic obstructive pulmonary disease (90 days of NO₂ exposure). Significant lymphocytic infiltration of the alveolar walls; alveolar space is filled with macrophages and desquamated alveolar cells. Bronchial epithelium is mucus-producing

экстраклеточный цитокиновый сигналинг, регулирующий врожденный иммунный ответ легочных эпителиоцитов [13, 14]. Существенную часть клеточного инфильтрата легких при ХОБЛ составляют клетки фенотипа CD8⁽⁺⁾IL-17 [15]. IL-17 отводится важная роль в формировании лимфоидных фолликулов в легочной ткани, наличие которых является признаком прогрессирования воспаления [16] и характерно для модели ХОБЛ, использованной в данной работе [9]. Увеличение экспрессии IL-17A обнаружено в легочной паренхиме и бронхах больных со стабильным течением ХОБЛ [17], регулярных курильщиков [13], а также мышей, экспонированных сигаретным дымом [15, 18]. *H. Yanagisawa et al.* [19] IL-17A рассматривается как патогенная изоформа семейства IL-17, а его рецептор (IL-17RA) – как релевантный рецептор воспаления и фиброза бронхов при ХОБЛ. При ингибировании IL-17A путем введения моноклональных антител снижались уровни IL-17A и IL-8 в БАЛЖ, уменьшался приток нейтрофилов и ослаблялись проявления хронического воспаления дыхательных путей, вызванного воздействием озона [20].

Индукция COX-2 в легочном эпителии и паренхиме возникает не только при хроническом воспалении, но и в ответ на воздействие инфекционных факторов и респираторных токсикантов (например, сигаретного дыма и его компонентов, в частности, диоксида азота), что ведет к преобладанию деструктивных сдвигов в бронхоальвеолярном эпителии над регенеративными процессами [21]. Существуют различные предположения относительно механизмов, регулирующих активность COX-2-провоспалительного сигнального каскада в легких. Так, репаративный и противовоспалительный эффект введения в эмфизематозные легкие мезенхимальных стволовых клеток связывается с уменьшением экспрессии COX-2 и продукции PgE2 посредством блокирования внутриклеточных киназных сигнальных путей p38 MAPK и ERK [22]. Доказано супрессивное действие RelB, члена семейства транскрипционного ядерного фактора каппа-би (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells* – NF- κ B), на экспрессию COX-2 в структурных клетках легких, вызванную сигаретным дымом [21, 23]. Отмечено, что этот механизм может быть опосредован осью RelB-микроРНК-146a, которая представляет собой новый регуляторный путь, способствующий снижению воспаления в ответ на действие пневмотоксикантов.

Воспалительному процессу в бронхах всегда сопутствует гипоксическая среда, при которой возрастает экспрессия HIF-1 α [1, 4]. При гипоксии увеличивалась экспрессия гена-мишени HIF-1 α на уровне мРНК и белка в культуре альвеолоцитов 2-го типа крысы и их апоптоз по сравнению с клетками, культивируемыми при нормоксии [24]. Провоспалительные цитокины фактор некроза опухоли- α / IL-4 индуцировали экспрессию HIF-1 α в эпителиоцитах бронхов человека [25]. Высокие уровни экспрессии HIF-1 α и NF- κ B и сниженное содержа-

ние SP-D определялись в сыворотке крови пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна [26]. Как следует из табл. 2, повышенному содержанию HIF-1 α в БАЛЖ крыс контрольной группы сопутствовало увеличение концентраций провоспалительных COX-2 и IL-17 и снижение содержания SP-D.

M. Huang et al. [27] установлено, что HIF-1 α стимулирует экспрессию фермента COX-2 и способствует эпителиально-мезенхимальной трансформации. Под воздействием экстракта сигаретного дыма в культуре клеток альвеолярного эпителия человека A549 и легочной ткани мышей выявлен HIF-1 α -зависимый характер эпителиально-мезенхимального перехода, при котором бронхиальные и альвеолярные эпителиоциты претерпевали функциональный фенотипический сдвиг с увеличением отложения коллагена, снижением межклеточной адгезии и нарушением барьерной целостности эпителия [28]. В процессе формирования ХОБЛ аналогичные изменения наблюдались в эпителиальной выстилке тонкого кишечника, имеющей, как и легочный эпителий, энтодермальное происхождение – увеличение экспрессии HIF-1 α приводило к нарушению плотных межклеточных контактов и барьерной функции эпителия [29]. Увеличение экспрессии HIF-1 α могло подавлять секрецию из альвеолоцитов 2-го типа SP-D, который обеспечивает развитие адекватного иммунного ответа при действии пневмотоксикантов и патогенов, а также рассматривается как потенциальный биомаркер и регулятор локального и системного воспаления при заболеваниях легких, таких как ХОБЛ [12]. Подавить транскрипционную активность HIF-1 α удавалось путем блокирования внутриклеточных сигнальных киназных путей PI3K-mTOR и NF- κ B [25].

Критическую роль в регуляции экспрессии HIF-1 α играет катализируемая COX-2 продукция PgE2 [30], поэтому вполне обоснованным было предположение, что селективные ингибиторы COX-2 могут подавлять активность HIF-1 α , влиять на ядерную релокализацию и предотвращать индукцию транскрипции многочисленных HIF-1-опосредованных генов. При воздействии селективного ингибитора COX-2 (NS398) снижалась экспрессия мРНК HIF-1 α , уменьшались синтез HIF-1 α и его транскрипционная активность по COX-2 / PgE2-зависимому механизму, подавлялась активация внутриклеточного PI3K / АКТ / mTOR-сигнального пути [7]. На модели эмфиземы, индуцированной у мышей 20-недельным воздействием сигаретного дыма, противовоспалительный эффект целекоксиба был опосредован его влиянием на экспрессию генов, регулируемых NF- κ B-сигналингом, вследствие чего замедлялось прогрессирование эмфиземы [31]. Возможный механизм противовоспалительного эффекта целекоксиба посредством предотвращения активации NF- κ B-сигналинга и экспрессии NF- κ B-регулируемых генов, к числу которых относятся HIF-1 α и COX-2, представлен на рис. 2.

Итак, целекоксиб является блокатором NF- κ B-сигнального пути. В цитоплазме NF- κ B находится

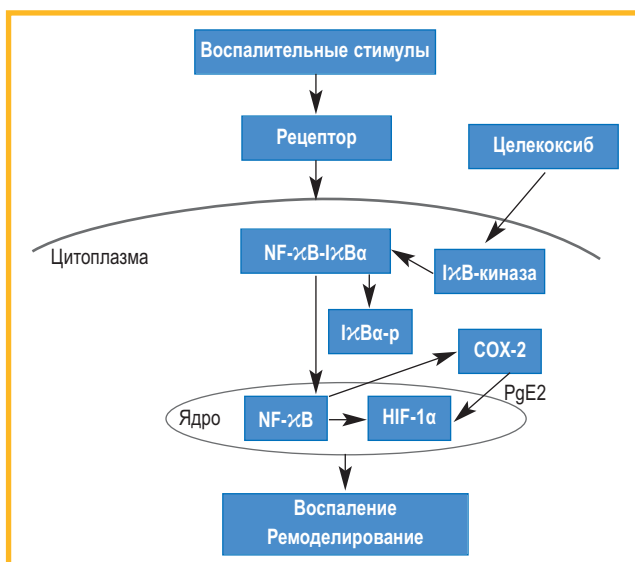


Рис. 2. Модель хронической обструктивной болезни легких (90 дней воздействия NO₂) + целекоксиб: нормальное строение бронхиального эпителия. Инфильтрация стенок альвеол единичными лимфоцитами
Примечание: NF-κB (nuclear factor kappa-lightchain-enhancer of activated B-cells) – транскрипционный ядерный фактор-κB; IκBα – ингибиторный белок; COX-2 – циклооксигеназа-2; PgE2 – простагландин E2; HIF-1α – гипоксия-индуцибельный фактор-1α.
Figure 2. A model of chronic obstructive pulmonary disease (90 days of NO₂ exposure + celecoxib). Normal bronchial epithelium. Alveolar walls are scarcely infiltrated by lymphocytes

в неактивном состоянии в комплексе с ингибиторным белком IκBα. Под влиянием воспалительного стимула происходит фосфорилирование IκBα (IκBα-p) специфической IκB-киназой с последующей деградацией ингибиторного белка убиквитин-протеасомной системой. Свободный NF-κB поступает в ядро и активирует транскрипцию контролируемых генов, в данном случае HIF-1α и COX-2. При ингибировании IκB-киназы (–), опосредованном целекоксибом, блокируется транскрипционная активность NF-κB и последующая экспрессия генов, а также продукция белков HIF-1α и COX-2.

Заключение

По результатам проведенного исследования впервые заявлено о тесной функциональной и взаимно регуляторной связи системы гипоксического сигналинга и провоспалительного COX-2-опосредованного пути, реализующейся в процессе формирования модели ХОБЛ. Применение селективного ингибитора COX-2 целекоксиба сопровождалось уменьшением содержания в бронхоальвеолярном пространстве COX-2, HIF-1α и провоспалительного цитокина IL-17, а также нормализацией цитологического профиля БАЛЖ, что свидетельствовало о снижении активности гипоксического сигналинга и воспалительного процесса. Нормализация уровня IL-17 в БАЛЖ крыс, получавших целекоксиб, могло способствовать восстановлению нарушенной в процессе формирования модели ХОБЛ внеклеточной IL-17-зависимой сигнализации. Значительное повышение секреции SP-D можно рассматривать как следствие восстановления морфологической струк-

туры бронхоальвеолярного эпителия, являющейся основой его функциональной полноценности и барьерной целостности.

Результаты данного исследования могут стать основой нового подхода к патогенетическому лечению ХОБЛ, при котором превентивное ингибирование транскрипционного генного регулятора гипоксического сигналинга HIF-1α посредством блокирования COX-2 позволит предотвратить прогрессирование воспаления и аномальное ремоделирование дыхательных путей и легочной ткани.

Конфликт интересов

Конфликт интересов авторами не заявлен. Исследование проводилось без участия спонсоров.

Conflict of interest.

The authors declare no conflict of interest. The study was not supported.

Литература

1. Clerici C., Planès C. Gene regulation in the adaptive process to hypoxia in lung epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2009; 296 (3): 267–274. DOI: 10.1152/ajplung.90528.2008.
2. Rey S., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodelling. *Cardiovasc. Res.* 2010; 86 (2): 236–242. DOI: 10.1093/cvr/cvq045.
3. Lee S.H., Lee S.H., Kim C.H. et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor-1α in lung tissue of patients with chronic bronchitis. *Clin. Biochem.* 2014; 47 (7-8): 552–559. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.01.012.
4. Hoenderdos K., Lodge K.M., Hirs R.A. et al. Hypoxia upregulates neutrophil degranulation and potential for tissue injury. *Thorax.* 2016; 71 (11): 1030–1038. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207604.
5. Polke M., Seiler F., Lepper P.M. et al. Hypoxia and the hypoxia-regulated transcription factor HIF-1α suppress the host defence of airway epithelial cells. *J. Innate Immun.* 2017; 23 (4): 373–380. DOI: 10.1177/1753425917698032.
6. Ito Y., Ahmad A., Kewley E. et al. Hypoxia-inducible factor regulates expression of surfactant protein in alveolar type II cells in vitro. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 45 (5): 938–945. DOI: 10.1165/rcmb.2011-0052OC.
7. Zhong H., Willard M., Simons J. NS398 reduces hypoxia-inducible factor (HIF)-1α and HIF-1 activity: multiple-level effects involving cyclooxygenase-2 dependent and independent mechanisms. *Int. J. Cancer.* 2004; 112 (4): 585–595. DOI: 10.1002/ijc.20438.
8. Bruning U., Fitzpatrick S.F., Frank T. et al. NFκB and HIF display synergistic behaviour during hypoxic inflammation. *Cell. Mol. Life Sci.* 2012; 69 (8): 1319–1329. DOI: 10.1007/s00018-011-0876-2.
9. Лебедева Е.С., Кузубова Н.А., Данилов Л.Н. и др. Воспроизведение в эксперименте хронической обструктивной болезни легких. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2012; 152 (5): 659–663. DOI: 10.1007/s10517-012-1601-3.
10. Gao W., Li L., Wang Y. et al. Bronchial epithelial cells: The key effector cells in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Respirology.* 2015; 20 (5): 722–729. DOI: 10.1111/resp.12542.
11. Yanagisawa H., Hashimoto M., Minagawa S. et al. Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2017; 312 (1): 122–130. DOI: 10.1152/ajplung.00301.2016.

12. Лямина С.В., Малышев И.Ю. Сурфактантный белок D в норме и при заболеваниях легких. *Российский медицинский журнал*. 2012; (1): 50–55.
13. Levänen B., Glader P., Dahlén B. et al. Impact of tobacco smoking on cytokine signaling via interleukin-17A in the peripheral airways. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016; 11: 2109–2116. DOI: 10.2147/COPD.S99900.
14. Pappu R., Rutz S., Ouyang W. Regulation of epithelial immunity by IL-17 family cytokines. *Trends Immunol.* 2012; 33 (7): 343–349. DOI: 10.1016/j.it.2012.02.008.
15. Duan M.C., Zhang J.Q., Liang Y. et al. Infiltration of IL-17-producing T cells and Treg cells in a mouse model of smoke-induced emphysema. *Inflammation*. 2016; 39 (4): 1334–1344. DOI: 10.1007/s10753-016-0365-8.
16. Yadava K., Bollyky P., Lawson M.A. The formation and function of tertiary lymphoid follicles in chronic pulmonary inflammation. *Immunology*. 2016; 149 (3): 262–269. DOI: 10.1111/imm.12649.
17. Chen X., Cao J., Chen B.Y. [Interleukin-17 expression and clinical significance in the lung tissue of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2016; 96 (26): 2086–2090. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.26.010 (in Chinese).
18. Roos A.B., Sethi S., Nikota J. et al. IL-17A and the promotion of neutrophilia in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 192 (4): 428–437. DOI: 10.1164/rccm.201409-1689OC.
19. Zhang M., Fei X., Zhang G.Q. et al. Role of neutralizing anti-murine interleukin-17A monoclonal antibody on chronic ozone-induced airway inflammation in mice. *Biomed. Pharmacother.* 2016; 83: 247–256. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.06.041.
20. Xu F., Xu Z., Zhang R. et al. Nontypeable Haemophilus influenzae induces COX-2 and PGE2 expression in lung epithelial cells via activation of p38 MAPK and NF- κ B. *Respir. Res.* 2008; 9: 16. DOI: 10.1186/1465-9921-9-16.
21. Zago M., Rico de Souza A., Hecht E. et al. The NF- κ B family member RelB regulates microRNA miR-146a to suppress cigarette smoke-induced COX-2 protein expression in lung fibroblasts. *Toxicol. Lett.* 2014; 226 (2): 107–116. DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.01.020.
22. Gu W., Song L., Li X.M. et al. Mesenchymal stem cells alleviate airway inflammation and emphysema in COPD through down-regulation of cyclooxygenase-2 via p38 and ERK MAPK pathways. *Sci. Rep.* 2015; 5: 8733. DOI: 10.1038/srep08733.
23. Sheridan J.A., Zago M., Nair P. et al. Decreased expression of the NF- κ B family member RelB in lung fibroblasts from smokers with and without COPD potentiates cigarette smoke-induced COX-2 expression. *Respir. Res.* 2015; 16: 54. DOI: 10.1186/s12931-015-0214-6.
24. He X.Y., Shi X.Y., Yuan H.B. et al. Propofol attenuates hypoxia-induced apoptosis in alveolar epithelial type II cells through down-regulating hypoxia-inducible factor-1 α . *Injury*. 2012; 43 (3): 279–283. DOI: 10.1016/j.injury.2011.05.037.
25. Jiang H., Zhu Y.S., Xu H. et al. Inflammatory stimulation and hypoxia cooperatively activate HIF-1 α in bronchial epithelial cells: involvement of PI3K and NF- κ B. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2010; 298 (5): 660–669. DOI: 10.1152/ajplung.00394.2009.
26. Lu D., Li N., Yao X., Zhou L. Potential inflammatory markers in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 2017; 17 (1): 47–53. DOI: 10.17305/bjbm.2016.1579.
27. Huang M., Wang L., Chen J. et al. Regulation of COX-2 expression and epithelial-to-mesenchymal transition by hypoxia-inducible factor-1 α is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients post TACE surgery. *Int. J. Oncol.* 2016; 48 (5): 2144–2154. DOI: 10.3892/ijo.2016.3421.
28. Eurlings I.M., Reynaert N.L., van den Beucken T. et al. Cigarette smoke extract induces a phenotypic shift in epithelial cells; involvement of HIF1 α in mesenchymal transition. *PLoS One*. 2014; 9 (10): e107757. DOI: 10.1371/journal.pone.0107757.
29. Li H., Wu Q., Xu L. et al. Increased oxidative stress and disrupted small intestinal tight junctions in cigarette smoke-exposed rats. *Mol. Med. Rep.* 2015; 11 (6): 4639–4644. DOI: 10.3892/mmr.2015.3234.
30. Liu X.H., Kirschenbaum A., Lu M. et al. Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1 α stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (51): 50081–50086. DOI: 10.1074/jbc.M201095200.
31. Roh G.S., Yi C.O., Cho Y.J. et al. Anti-inflammatory effects of celecoxib in rat lungs with smoke-induced emphysema. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2010; 299 (2): 184–191. DOI: 10.1152/ajplung.00303.2009.

Поступила 16.04.18

References

1. Clerici C., Planès C. Gene regulation in the adaptive process to hypoxia in lung epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2009; 296 (3): 267–274. DOI: 10.1152/ajplung.90528.2008.
2. Rey S., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodelling. *Cardiovasc. Res.* 2010; 86 (2): 236–242. DOI: 10.1093/cvr/cvq045.
3. Lee S.H., Lee S.H., Kim C.H. et al. Increased expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor-1 α in lung tissue of patients with chronic bronchitis. *Clin. Biochem.* 2014; 47 (7-8): 552–559. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2014.01.012.
4. Hoenderdos K., Lodge K.M., Hirs R.A. et al. Hypoxia upregulates neutrophil degranulation and potential for tissue injury. *Thorax*. 2016; 71 (11): 1030–1038. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207604.
5. Polke M., Seiler F., Lepper P.M. et al. Hypoxia and the hypoxia-regulated transcription factor HIF-1 α suppress the host defence of airway epithelial cells. *J. Innate Immun.* 2017; 23 (4): 373–380. DOI: 10.1177/1753425917698032.
6. Ito Y., Ahmad A., Kewley E. et al. Hypoxia-inducible factor regulates expression of surfactant protein in alveolar type II cells in vitro. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 45 (5): 938–945. DOI: 10.1165/rcmb.2011-0052OC.
7. Zhong H., Willard M., Simons J. NS398 reduces hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-1 activity: multiple-level effects involving cyclooxygenase-2 dependent and independent mechanisms. *Int. J. Cancer*. 2004; 112 (4): 585–595. DOI: 10.1002/ijc.20438.
8. Bruning U., Fitzpatrick S.F., Frank T. et al. NF κ B and HIF display synergistic behaviour during hypoxic inflammation. *Cell. Mol. Life Sci.* 2012; 69 (8): 1319–1329. DOI: 10.1007/s00018-011-0876-2.
9. Lebedeva E.S., Kuzubova N.A., Danilov L.N. et al. An experimental model of chronic obstructive pulmonary disease. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2012; 152 (5): 659–663 DOI: 10.1007/s10517-012-1601-3 (in Russian).

10. Gao W., Li L., Wang Y. et al. Bronchial epithelial cells: The key effector cells in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Respirology*. 2015; 20 (5): 722–729. DOI: 10.1111/resp.12542.
11. Yanagisawa H., Hashimoto M., Minagawa S. et al. Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2017; 312 (1): 122–130. DOI: 10.1152/ajplung.00301.2016.
12. Lyamina S.V., Malyshev I.Yu. Surfactant protein D in health and in lung diseases. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; (1): 50–55 (in Russian).
13. Levänen B., Glader P., Dahlén B. et al. Impact of tobacco smoking on cytokine signaling via interleukin-17A in the peripheral airways. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016; 11: 2109–2116. DOI: 10.2147/COPD.S99900.
14. Pappu R., Rutz S., Ouyang W. Regulation of epithelial immunity by IL-17 family cytokines. *Trends Immunol.* 2012; 33 (7): 343–349. DOI: 10.1016/j.it.2012.02.008.
15. Duan M.C., Zhang J.Q., Liang Y. et al. Infiltration of IL-17-producing T cells and Treg cells in a mouse model of smoke-induced emphysema. *Inflammation*. 2016; 39 (4): 1334–1344. DOI: 10.1007/s10753-016-0365-8.
16. Yadava K., Bollyky P., Lawson M.A. The formation and function of tertiary lymphoid follicles in chronic pulmonary inflammation. *Immunology*. 2016; 149 (3): 262–269. DOI: 10.1111/imm.12649.
17. Chen X., Cao J., Chen B.Y. [Interleukin-17 expression and clinical significance in the lung tissue of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2016; 96 (26): 2086–2090. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.26.010 (in Chinese).
18. Roos A.B., Sethi S., Nikota J. et al. IL-17A and the promotion of neutrophilia in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 192 (4): 428–437. DOI: 10.1164/rccm.201409-1689OC.
19. Zhang M., Fei X., Zhang G.Q. et al. Role of neutralizing anti-murine interleukin-17A monoclonal antibody on chronic ozone-induced airway inflammation in mice. *Biomed. Pharmacother.* 2016; 83: 247–256. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.06.041.
20. Xu F., Xu Z., Zhang R. et al. Nontypeable Haemophilus influenzae induces COX-2 and PGE2 expression in lung epithelial cells via activation of p38 MAPK and NF-kappa B. *Respir. Res.* 2008; 9: 16. DOI: 10.1186/1465-9921-9-16.
21. Zago M., Rico de Souza A., Hecht E. et al. The NF- κ B family member RelB regulates microRNA miR-146a to suppress cigarette smoke-induced COX-2 protein expression in lung fibroblasts. *Toxicol. Lett.* 2014; 226 (2): 107–116. DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.01.020.
22. Gu W., Song L., Li X.M. et al. Mesenchymal stem cells alleviate airway inflammation and emphysema in COPD through down-regulation of cyclooxygenase-2 via p38 and ERK MAPK pathways. *Sci. Rep.* 2015; 5: 8733. DOI: 10.1038/srep08733.
23. Sheridan J.A., Zago M., Nair P. et al. Decreased expression of the NF- κ B family member RelB in lung fibroblasts from Smokers with and without COPD potentiates cigarette smoke-induced COX-2 expression. *Respir. Res.* 2015; 16: 54. DOI: 10.1186/s12931-015-0214-6.
24. He X.Y., Shi X.Y., Yuan H.B. et al. Propofol attenuates hypoxia-induced apoptosis in alveolar epithelial type II cells through down-regulating hypoxia-inducible factor-1 α . *Injury*. 2012; 43 (3): 279–283. DOI: 10.1016/j.injury.2011.05.037.
25. Jiang H., Zhu Y.S., Xu H. et al. Inflammatory stimulation and hypoxia cooperatively activate HIF-1{alpha} in bronchial epithelial cells: involvement of PI3K and NF-{kappa}B. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2010; 298 (5): 660–669. DOI: 10.1152/ajplung.00394.2009.
26. Lu D., Li N., Yao X., Zhou L. Potential inflammatory markers in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 2017; 17 (1): 47–53. DOI: 10.17305/bjbm.2016.1579.
27. Huang M., Wang L., Chen J. et al. Regulation of COX-2 expression and epithelial-to-mesenchymal transition by hypoxia-inducible factor-1 α is associated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients post TACE surgery. *Int. J. Oncol.* 2016; 48 (5): 2144–2154. DOI: 10.3892/ijo.2016.3421.
28. Eurlings I.M., Reynaert N.L., van den Beucken T. et al. Cigarette smoke extract induces a phenotypic shift in epithelial cells; involvement of HIF1 α in mesenchymal transition. *PLoS One*. 2014; 9 (10): e107757. DOI: 10.1371/journal.pone.0107757.
29. Li H., Wu Q., Xu L. et al. Increased oxidative stress and disrupted small intestinal tight junctions in cigarette smoke-exposed rats. *Mol. Med. Rep.* 2015; 11 (6): 4639–4644. DOI: 10.3892/mmr.2015.3234.
30. Liu X.H., Kirschenbaum A., Lu M. et al. Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1alpha stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (51): 50081–50086. DOI: 10.1074/jbc.M201095200.
31. Roh G.S., Yi C.O., Cho Y.J. et al. Anti-inflammatory effects of celecoxib in rat lungs with smoke-induced emphysema. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2010; 299 (2): 184–191. DOI: 10.1152/ajplung.00303.2009.

Received April 16, 2018