

УДК 611.233-018.73:616-001.17/.19]612-092.4

DOI: 10.12737/article\_593604c09be309.46019930

## ХАРАКТЕРИСТИКА ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РЕСНИЧЕК МЕРЦАТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ БРОНХОВ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*

А.Н.Одиреев, Н.С.Безруков, Ю.М.Перельман, М.И.Шматок, К.Ф.Килимиченко,  
А.В.Колосов, Е.Ю.Кочегарова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

### РЕЗЮМЕ

Цель исследования – изучить характер и степень выраженности изменений двигательной активности ресничек мерцательного эпителия (МЭ) слизистой оболочки бронхов при непосредственном воздействии гипосмотического стимула (дистиллированной воды) на бронхобиоптат в эксперименте *in vitro*. Обследовано 39 больных бронхиальной астмой, в том числе 14 мужчин и 25 женщин, всем проведена бронхофиброскопия с биопсией слизистой оболочки среднедолевого бронха. Для прижизненного исследования функциональной активности ресничек МЭ биоптат помещался в камеру с питательной средой Хенкса при комнатной температуре (+25°C). Регистрацию двигательной активности ресничек МЭ проводили с использованием микроскопа, камеры со встроенной высокочувствительной цифровой полнокадровой матрицей высокого разрешения и компьютера. Запись движения ресничек МЭ выполняли сразу же после помещения биоптата на предметное стекло в раствор Хенкса. Моделирование гипосмотического стресса проводили путем добавления дозатором в объем 0,01 мл раствора Хенкса 0,01 мл дистиллированной воды, после чего сразу же проводили повторную запись биения ресничек и повторяли ее в контрольных точках опыта – через 1, 2, 3 и 4 минуты. Установлено, что средняя частота биения ресничек МЭ колебалась в пределах от 12,2 до 2,7 Гц и составила 8,73±1,27 Гц. После добавления в раствор Хенкса дистиллированной воды происходило снижение частоты биения ресничек до 6,51±1,71 Гц ( $p<0,001$ ). Уже после 1-й минуты установлено еще более выраженное снижение частоты биения до 5,94±1,57 Гц (на 9%) по сравнению с исходными показателями стрессовой реакции. На протяжении 2-й, 3-й и 4-й минут наблюдения тенденция к снижению частоты биения ресничек МЭ сохранялась (на 13, 15 и 17%, соответственно). К 4-й минуте наблюдения частота биения составила 5,33±1,29 Гц и статистически достоверно ( $p=0,035$ ) отличалась от исходного значения стрессовой реакции. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о выраженных изменениях двигательной активности ресничек МЭ при воздействии гипосмотического стимула на бронхобиоптат в эксперименте *in vitro*. Полученные данные позволили разработать математическую модель, характеризующую поведение ресничек МЭ при осмо-

тическом стрессе.

*Ключевые слова:* гипосмотический стимул, осмотический стресс, мерцательный эпителий бронхов, двигательная активность ресничек мерцательного эпителия.

### SUMMARY

#### THE CHARACTERISTIC OF MOTION ACTIVITY OF BRONCHIAL MUCOSA CILIATED EPITHELIUM CILIA AT OSMOTIC STRESS IN THE EXPERIMENT *IN VITRO*

A.N.Odireev, N.S.Bezrukov, J.M.Perelman,  
M.I.Shmatok, K.F.Kilimichenko, A.V.Kolosov,  
E.Yu.Kochegarova

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

The aim of the research is to study the character and degree of intensiveness of changes in the motion activity of ciliated epithelium (CE) cilia of the bronchial mucosa at immediate effect of hypotonic stimulus (distilled water) on bronchial biopsy material in the experiment *in vitro*. 39 patients with bronchial asthma including 14 men and 25 women were examined; all had bronchial fiberoptic scope examination with biopsy of middle lobe bronchus mucosa. For intravital analysis of functional activity of CE cilia the biopsy material was put into the chamber with Hank's solution at indoor temperature (+25°C). The registration of the motion activity of CE cilia was done with the help of the microscope, the camera with in-built highly sensitive digital full-frame matrix of high definition and a computer. The recording of CE cilia beating was done immediately after the biopsy material was put on the object-plate in the Hank's solution. Modeling of hypotonic stress was carried out by adding 0.01 ml of distilled water into 0.01 ml of Hank's solution with the help of the dispenser; after that there was an immediate recording of cilia beating and it was repeated in the control moments of the experiment in 1, 2, 3 and 4 minutes. It was found out that the beat frequency of CE cilia fluctuated within the range from 12.2 till 2.7 Hz and was on average 8.73±1.27 Hz. When the distilled water was added into Hank's solution, there was the decrease of cilia beating frequency till 6.51±1.71 Hz ( $p<0.001$ ). After the 1<sup>st</sup> minute of the experiment the frequency of beating decreased till 5.94±1.57 Hz (by 9%) in comparison with the initial values of the stress reaction. During the 2<sup>nd</sup>,

3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> minutes of observation there was a steady tendency of cilia beating frequency decrease (by 13, 15 and 17%, respectively). By the fourth minute of observation the beating frequency was  $5.33 \pm 1.29$  Hz and was statistically different ( $p=0.035$ ) from the initial value of stress reaction. Thus the results of the research show intensive changes in the motion activity of cilia at the influence of hyposmotic stimulus on bronchial biopsy material in the experiment *in vitro*. Obtained data allowed to develop the mathematical model which characterizes the behavior of cilia under osmotic stress.

*Key words:* hyposmotic stimulus, osmotic stress, bronchial ciliated epithelium, ciliated epithelium cilia motion activity.

Высокая относительная влажность окружающего воздуха в регионах со сложными климатическими условиями, в том числе связанными с частыми неблагоприятными погодными явлениями (туман, муссонные дожди, наводнения, резкие суточные колебания температуры и т.д.), а также сочетание высокой влажности и низких температур оказывают существенное негативное влияние на организм человека [3]. У больных бронхиальной астмой (БА) на фоне высокой лабильности дыхательных путей воздействие гипоосмолярного экзогенного стимула приводит к спастической реакции, что является причиной увеличения частоты обострений и неконтролируемого течения заболевания [5]. Изменение осмолярности межклеточного пространства является серьезной угрозой гомеостазу отдельной клетки и организма в целом и сопровождается комплексом ответных реакций, именуемых осмотическим стрессом. Наиболее распространено мнение, что общий патофизиологический механизм развития бронхоспастической реакции в ответ на действие гипо- и гиперосмолярного триггеров базируется на высвобождении провоспалительных медиаторов тучными клетками, что прямым образом влияет на сокращение гладкой мускулатуры дыхательных путей. Предположения ученых относительно механизмов развития бронхоспазма и гиперсекреции слизи, вызванных осмотическим стимулом включают гипотезы о роли изменения электролитного баланса, реакции со стороны клеточных элементов воспалительного процесса, нервно-рефлекторных механизмов. Существует и молекулярный компонент, опосредующий осморцепцию, которым, как недавно было установлено, является подсемейство катионных каналов с транзитным рецепторным потенциалом TRPV, а именно его представители TRPV1, TRPV4 и, возможно, TRPV2. Эти рецепторные белки широко экспрессированы в респираторном тракте: на клетках бронхиального эпителия, клетках воспаления (тучных клетках, макрофагах), гладкомышечных клетках и чувствительных нервных окончаниях. Доказано, что являясь неселективными проводниками ионов кальция, TRPV при активации в различных условиях способны опосредовать множество биологически значимых событий: синтез и секрецию воспалительных медиаторов, гиперсекрецию муцинов, дифференцировку фибробластов и сокращение гладкой мускулатуры [13, 16].

Имеются сведения о том, что нарушение осмолярности внутрибронхиальной среды сопровождается изменением осмотического градиента и ионного состава перилимфальной жидкости многоклеточного мерцательного эпителия (МЭ), увеличением экспрессии эндотелина-1 бронхиальным эпителием, активацией тучных клеток интерстиция, секрецией нейротрансмиттеров, гистамина и цитокинов [9, 11, 15, 24]. Важная роль в формировании более выраженной реакции дыхательных путей на осмотический стимул и утрате контроля над заболеванием отводится метаболитам оксидативного стресса, в частности, недоокисленным продуктам перекисного окисления липидов [4, 19, 20]. Еще одним аспектом осмотического воздействия является осмотическая регуляция секреции муцинов. Установлено, что наряду с гиперосмотической средой, низкое осмотическое давление также способно индуцировать экспрессию и секрецию MUC5AC, что сопровождается уменьшением экспрессии гена аквапорина AQP-5 у больных ХОБЛ [25]. Наконец, изменение осмолярности затрагивает экспрессию сотен генов, находящихся под контролем основного транскрипционного фактора NFAT5 [14].

Каскад указанных выше патофизиологических реакций находит своё клиническое выражение в бронхообструкции, нарушении мукоцилиарного клиренса, активации кашлевого рефлекса и возрастании риска инфицирования дыхательных путей [24]. Вполне логично предположить, что происходящее при вдыхании влажного воздуха нарушение осмолярности внутрибронхиальной среды, в первую очередь, негативно отражается на деятельности мукоцилиарной системы, следствием чего является угнетение мукоцилиарного клиренса – важного физиологического механизма защиты структурных элементов и функции многих клеток дыхательных путей от различного рода патогенов. Гиперсекреторные и морфофункциональные нарушения в мукоцилиарной системе могут выступать в качестве одного из механизмов развития гиперреактивности дыхательных путей.

В связи с этим несомненный интерес вызывает изучение патофизиологических механизмов формирования мукоцилиарной недостаточности при воздействии гипоосмолярного экзогенного стимула. До настоящего времени нет четких представлений о характере морфофункциональных нарушений в МЭ дыхательных путей при гипоосмолярном состоянии. Существуют лишь единичные экспериментальные исследования, свидетельствующие о происходящих морфологических изменениях в эпителии дыхательных путей крыс, к числу которых относят гипертрофию эпителиоцитов с увеличением линейных размеров, изменения в апикальном полюсе реснитчатых эпителиоцитов, увеличение секреции бокаловидных клеток [6]. Не совсем понятно, в какой степени обнаруженные в результате гипоосмолярного воздействия структурные нарушения оказывают влияние на функциональную активность реснитчатых клеток, обеспечивающую мукоцилиарный транспорт. Ответ на этот вопрос в полной мере могут дать результаты экспериментального прижизнен-

ного (при помещении биоптата бронхов в камеру с культуральной средой) изучения частоты биения ресничек МЭ – основного количественного параметра ресничного движения.

Цель исследования – изучить характер и степень выраженности изменений двигательной активности ресничек МЭ слизистой оболочки бронхов при непосредственном воздействии гипосмотического стимула (дистиллированной воды) на бронхобиоптат в эксперименте *in vitro*.

**Материалы и методы исследования**

Обследовано 39 больных смешанной формой бронхиальной астмы (J 45.8), в том числе 14 мужчин и 25 женщин. Средний возраст пациентов составил 42,1±1,6 года, длительность заболевания – 12,1±2,4 лет. По критериям GINA легкое персистирующее течение астмы диагностировано у 17 больных, среднетяжелое – у 22 пациентов. Обследование пациентов проводили в период обострения заболевания в условиях пульмонологического отделения при условии снижения интенсивности клинических симптомов и достижения частичного фармакотерапевтического контроля астмы. Протокол исследования был одобрен Комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД. Больные знакомы с протоколом информированного согласия и подписывали его

Всем пациентам проведена бронхофиброскопия с биопсией слизистой оболочки среднедолевого бронха. Бронхоскопию выполняли аппаратом BF-1T20 «Olympus» (Япония). Выраженность воспалительного процесса изучали с применением качественно-количественного показателя – индекса активности эндобронхита (в % от максимального значения), учитывающего комплекс эндоскопических признаков воспаления в дыхательных путях.

Для прижизненного исследования функциональной активности ресничек МЭ биоптат со шпоры среднедолевого бронха забирался и помещался в камеру с питательной средой Хенкса при комнатной температуре (+25±С). При помощи одноканального механического дозатора переменного объема BIONIT proline фирмы «Sartorius Biohit Liquid Handling» (Финляндия) биоптат переносили на предметное стекло с углублением в объем 0,01 мл раствора Хенкса. Регистрацию двигательной активности ресничек МЭ проводили с использованием микроскопа Micros MC400A (Австрия), современной камеры Sony alpha 7 (Япония) со встроенной высокочувствительной цифровой полнокадровой матрицей высокого разрешения FullHD, способной производить запись с частотой 50 кадр/сек и компьютера (рис. 1). Для обработки полученного с камеры видеоизображения использовали разработанные нами алгоритмы: фиксации изображения, поиска ресничек МЭ на изображении, регистрации движения ресничек МЭ, работа которых в совокупности позволила автоматизировать процесс регистрации двигательной активности ресничек МЭ [1, 2]. Предложенные алгоритмы функционально дополняют друг друга. Их совместное

использование позволяет уменьшить количество ложных результатов при измерении частоты биения ресничек МЭ.

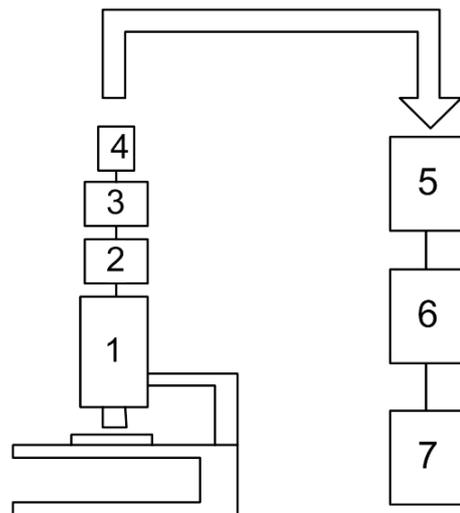


Рис. 1. Схема работы устройства для исследования двигательной активности ресничек МЭ. 1 – микроскоп; 2 – схема крепления; 3 – цифровая матрица; 4 – внешний накопитель информации цифровой камеры; 5 – устройство считывания; 6 – компьютер; 7 – специальная программа.

Запись двигательной активности ресничек МЭ выполняли сразу же после помещения биоптата на предметное стекло в раствор Хенкса в условиях, максимально приближенных к физиологическим. Моделирование гипосмотического стресса проводили путем добавления дозатором в объем 0,01 мл раствора Хенкса 0,01 мл дистиллированной воды, после чего сразу же проводили повторную запись биения ресничек. С целью оценки особенностей реакции ресничек на гипотонический стимул в зависимости от продолжительности инкубации в дистиллированной воде, запись двигательной активности повторяли в контрольных точках опыта – через 1, 2, 3 и 4 минуты. Контролируемый параметр двигательной активности ресничек МЭ – частота биения (Гц).

Статистический анализ полученного материала проводили на основе стандартных методов вариационной статистики, с оценкой достоверности различий по t-критерию Стьюдента (парный метод) и критерию  $\chi^2$  К.Пирсона.

**Результаты исследования и их обсуждение**

При проведении бронхоскопии воспалительные изменения в трахеобронхиальном дереве выявлены у всех 39 больных БА, вместе с тем интенсивность воспаления была минимальной – в пределах 1-й степени (по 3-х балльной системе). Анализ выраженности воспалительного процесса с использованием качественно-количественного показателя – индекса активности эндобронхита (в процентах от максимального значения – 100%), продемонстрировал низкие значения последнего – от 11 до 22% (14,6±1,2% от макс.). Вместе с тем, биение ресничек МЭ на поверхности биоптата опреде-

лено не у всех участников исследования, хотя и у абсолютного большинства из них – 30 (77%) пациентов ( $\chi^2=22,61$ ;  $p<0,001$ ).

Средняя частота биения ресничек МЭ у этих 30 лиц колебалась в пределах от 12,2 до 2,7 Гц и составила  $8,73 \pm 1,27$  Гц. Как свидетельствуют исследования данных мировой научной литературы, проведенные А.Г.Черменским и соавт. [7], результаты изучения биения ресничек МЭ в зависимости от методов регистрации и анализа частоты биения ресничек находятся в довольно широких пределах. Частота биения ресничек назального эпителия у здоровых людей, измеренная фотометрическим методом, при световой микроскопии составила 11,2-12,8 Гц, при телевизионной интерферентной контрастной микроскопии – 9,5 Гц, при компьютерной фотометрии – 7,0-8,1 Гц. При записи фотоэлектрического сигнала с последующим преобразованием Фурье частота биения ресничек составляла 7,8 Гц. В крупных бронхах частота биения ресничек была равна 7,1 Гц и не зависела от возраста. Однако некоторыми авторами установлены нормальные возрастные диапазоны для структуры и частоты биения ресничек МЭ. Так, М.А.Chilvers et al. [8] было проведено исследование для определения структуры и частоты биения ресничек назального эпителия у 76 здоровых детей и взрослых в возрасте от 6 до 43 лет методом браш-биопсии. Биение ресничек было записано с использованием цифровой высокоскоростной видеокамеры, которая позволяла анализировать цилиарный ритм и частоту биений. Структура ресничек изучена методом трансмиссионной электронной микроскопии. Установлено, что средняя частота биения для детей составила от 12,8 Гц, что было выше, чем у взрослых (11,5 Гц;  $p<0,01$ ). В общей совокупности пациентов 10% реснитчатой каймы имело дискинетический тип биения ресничек, все образцы имели признаки легкого эпителиального повреждения, ультраструктурные дефекты были обнаружены менее чем у 5% ресничек. Таким образом, и в здоровой популяции может присутствовать локализованное эпителиальное повреждение, вызывая области ресничной дискинезии.

Сразу после добавления в раствор Хенкса равного объема дистиллированной воды, в общей совокупности исследованных бронхобиоптатов установлено статистически достоверное снижение частоты биения ресничек (рис. 2) в среднем с  $8,73 \pm 1,27$  до  $6,51 \pm 1,71$  Гц ( $p<0,001$ ).

При наблюдении за динамикой частоты биения ресничек МЭ при нахождении биоптата в дистиллирован-

ной воде в течение 4-х минут, путем фиксации показаний в 4-х контрольных точках, уже после 1-й минуты установлено еще более выраженное снижение (на 9%) частоты биения по сравнению с исходными показателями стрессовой реакции. На протяжении 2-й, 3-й и 4-й минут наблюдения тенденция к снижению частоты биения ресничек МЭ сохранялась, в среднем снижение происходило на 13, 15 и 17%, соответственно. К 4-й минуте наблюдения частота биения статистически достоверно ( $p=0,035$ ) отличалась от исходного значения стрессовой реакции (рис. 3, табл.).

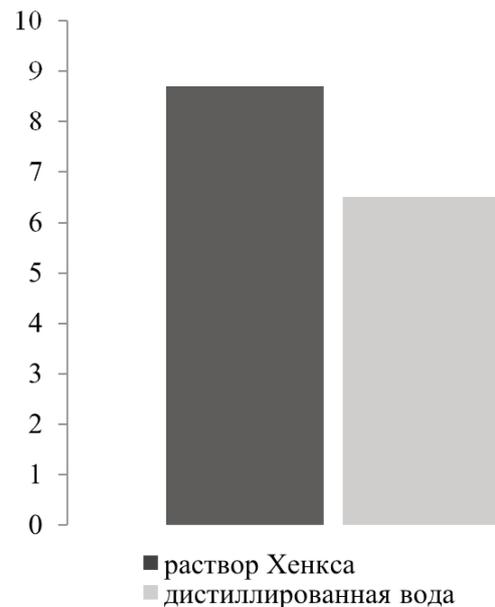


Рис. 2. Средняя частота биения ресничек МЭ в общей совокупности исследованных бронхобиоптатов при осмотическом стрессе (Гц).

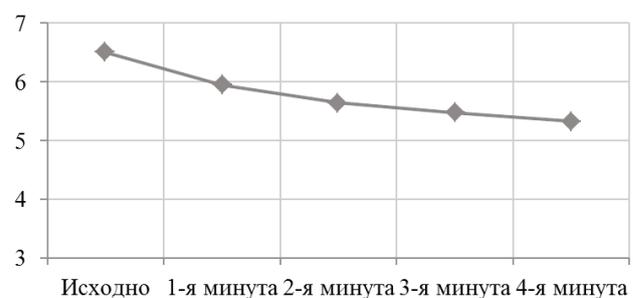


Рис. 3. Динамика снижения частоты биения ресничек МЭ бронхов в общей совокупности исследованных бронхобиоптатов на протяжении 4-х минут наблюдения при нахождении в гипоосмолярной среде (Гц).

Таблица

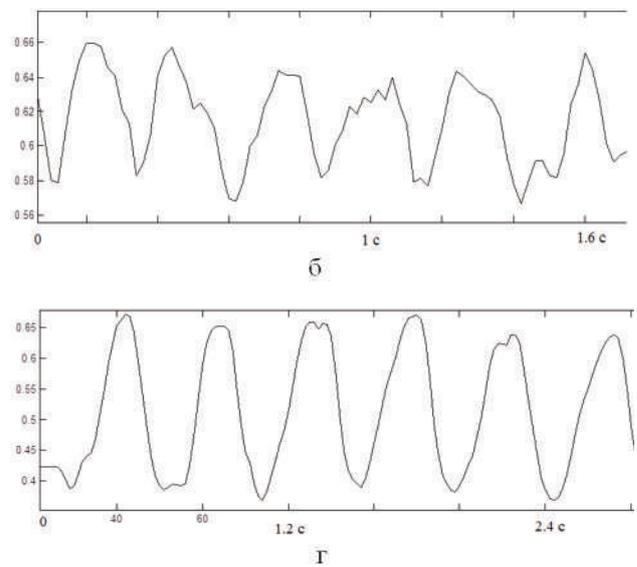
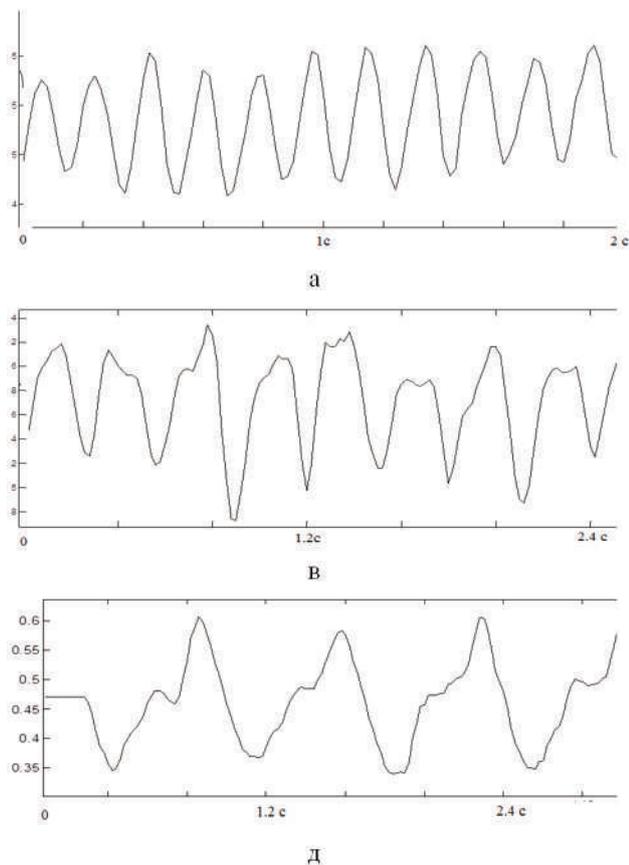
**Характеристика частоты биения ресничек МЭ бронхов в общей совокупности исследованных бронхобиоптатов в зависимости от длительности осмотического стресса на протяжении 4-х минут наблюдения (M±m)**

Параметры	Контрольные точки				
	Исходная	1-я минута	2-я минута	3-я минута	4-я минута
Частота биения, Гц	6,51±1,71	5,94±1,57	5,64±1,52	5,48±1,51	5,33±1,29*
Относительное значение, в % от исходного	100	91,52±5,07	87,11±7,50	84,91±8,71	82,71±5,42*

Примечание: \* – различия статистически достоверны по сравнению с исходными показателями ( $p<0,05$ ). Для определения статистической значимости различий парных (повторных) измерений использован парный t-критерий Стьюдента.

На рисунке 4 представлены характерные изменения частоты биения ресничек МЭ на поверхности биоптата среднедолевого бронха больного БА в зависимости от

времени инкубации препарата в дистиллированной воде.



- а) Исходная точка, частота биения 5,46 Гц.
- б) Через 1 мин, частота биения 3,90 Гц.
- в) Через 2 мин, частота биения 3,32 Гц.
- г) Через 3 мин, частота биения 2,34 Гц.
- д) Через 4 мин, частота биения 1,37 Гц.

Рис. 4. Больной Л., 45 лет. БА, легкой степени тяжести. Биопсия со шпору среднедолевого бронха. Запись двигательной активности МЭ после моделирования гипоосмолярного стресса *in vitro* на протяжении 4-х минут.

Полученные нами данные позволили разработать математическую модель, характеризующую поведение ресничек МЭ при осмотическом стрессе.

При интерполяции одномерных данных полиномами 2 и 3 порядка получаем уравнения со среднеквад-

ративной ошибкой (ошибка аппроксимации) 0,086 и 0,0036. Ошибка у полинома 3 порядка в 20 раз меньше. Коэффициент корреляции модели и средних данных стремится к 1 (рис. 5).

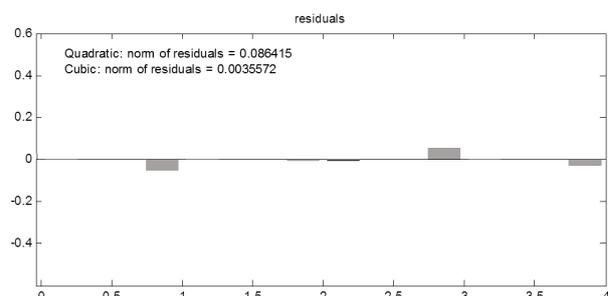
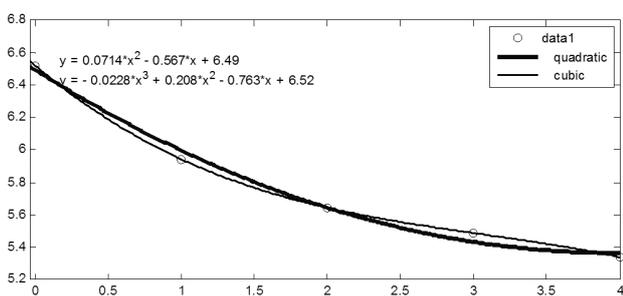


Рис. 5. Математическая модель зависимости частоты биения ресничек от длительности нахождения в гипоосмолярной среде.

Предлагается уравнение регрессии, отражающее степень зависимости частоты биения ресничек от длительности нахождения в гипоосмолярной среде:

$$Y = -0,0228 \times X^3 + 0,208 \times X^2 - 0,763 \times X + 6,52$$

где Y – частота биения (Гц); X – время (мин).

Среднеквадратичная ошибка составляет 0,0036. Значимость уравнения – 99%.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о выраженных изменениях двигательной

активности ресничек МЭ слизистой оболочки бронхов при непосредственном воздействии гипоосмотического стимула (дистиллированной воды) на бронхобиоптат в эксперименте *in vitro*.

Механизмы нарушений мукоцилиарного транспорта чрезвычайно сложны. Безусловно, нельзя считать основополагающим в угнетении мукоцилиарного транспорта только одно его звено (цилиарный аппарат или реологию слизи). Мукоцилиарная система выпол-

няет свою функцию благодаря слаженной работе мерцательного и секреторного аппарата бронхиального дерева. По данным L. Trout et al. [22] определяющая роль в функционировании мукоцилиарного транспорта принадлежит трансмембранному движению электролитов, поддерживающих осмотический градиент по обе стороны клеточной мембраны и влияющих на абсорбцию воды. Это обеспечивает оптимальный ионный состав и объём перилимфарной жидкости, определяющей реологические свойства слизи, такие как вязкость и эластичность. D.M.Goto et al. [12] показано, что осмотически активные препараты, например, диуретики, за счет влияния на работу трансмембранных ионных каналов в клетках респираторного эпителия способны изменять реологические свойства слизи. Даже незначительные изменения в слое перилимфарной жидкости приводят к нарушению взаимодействия в системе ресничка/слизь и снижению мукоцилиарного транспорта [18].

В ритме сокращения ресничек определяющим является импульс, приводящий их к движению. При изучении работы ресничек было установлено, что в их составе находится АТФ. Ресничку можно рассматривать как органеллу, составленную из двух основных, связанных друг с другом частей: собственно реснички и базального тела. Длина реснички колеблется от 5 до 10 мкм; диаметр от 0,1 до 0,2 мкм. Мембраны ресничек соприкасаются с плазматической мембраной клетки и содержат специфические рецепторы и белки ионных каналов, которые иницируют сигнальный путь. Известно, что ритмичная работа ресничек регулируется гуморальными механизмами, практически не координируется нервной системой и возможна даже вне организма. Предполагают, что регуляция частоты их биения связана с мембранным потенциалом клетки [17, 22].

Для адекватного функционирования цилиарного аппарата должны соблюдаться определенные условия в слизистой оболочке дыхательных путей, такие как достаточное содержание АТФ, ионов кальция, оксида азота. Основная движущая сила ресничек МЭ – это АТФ, от запасов которого зависит частота и длительность работы цилиарного аппарата. Как показывают биохимические исследования, АТФ локализуется в микротрубочках и базальных тельцах, которые играют большую роль в ресниччатом ударе. АТФ обеспечивает энергетические процессы моторных белков – динеиновых и кинезиновых моторов [21, 23].

Нарушение нормальной осмолярности межклеточного пространства приводит к изменениям клеточного объема, поскольку вода и растворенные в ней вещества начинают поступать в клетку или покидать ее, приводя к набуханию или сморщиванию. В эксперименте показано, что под действием гипоосмолярного стимула происходят изменения в эпителиальных клетках, сопровождаясь их отеком и увеличением клеточного давления [11]. Это приводит к растяжению мембраны, нарушению структуры цитоскелета и изменению конформации мембранных белков. Изменения натяжения мембраны и цитоскелета вызывают на-

рушение работы различных белковых каналов и рецепторов, встроенных в мембрану. Гипотонический стимул приводит к быстрому изменению осмолярности и электролитного баланса [10] вследствие механического набухания клетки с последующими изменениями в электрохимическом градиенте. Скорее всего, в данной ситуации одним из механизмов нарушения функциональной активности МЭ бронхов может являться снижение образования АТФ в митохондриях клетки и нарушение процессов окислительного фосфорилирования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Безруков Н.С., Шматок М.И. Новый способ регистрации активности ресничек мерцательного эпителия дыхательных путей // Материалы IX международной научной конференции «Системный анализ в медицине» (САМ 2015) / под общ. ред. В.П.Колосова. Благовещенск, 2015. С. 50–56.
2. Безруков Н.С., Одириев А.Н., Шматок М.И. Алгоритмы регистрации движения ресничек мерцательного эпителия // Материалы X международной научной конференции «Системный анализ в медицине» (САМ 2016) / под общ. ред. В.П.Колосова. Благовещенск, 2016. С.33–36.
3. Колосов В.П., Манаков Л.Г., Кикун П.Ф., Полянская Е.В. Заболевания органов дыхания на Дальнем Востоке России: эпидемиологические и социально-гигиенические аспекты. Владивосток: Дальнаука, 2013. 220 с.
4. Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Бородин Е.А., Ушакова Е.В. Роль оксидативного стресса в реакции дыхательных путей на гипоосмолярный стимул у больных бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. Вып.54. С.17–22.
5. Хижняк Ю.Ю., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Сезонная динамика проходимости и реактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой в условиях муссонного климата // Тихоокеанский медицинский журнал. 2009. №1. С.82–84.
6. Целуйко С.С., Семенов Д.А., Перельман Ю.М., Одириев А.Н. Морфофункциональная характеристика слизиобразующих компонентов воздухоносного отдела легких крыс при осмотическом стрессе // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2015. Вып.57. С.70–76.
7. Черменский А.Г., Гембицкая, Т.Е., Сологуб Т.С., Орлов А.В., Миткина Е.Н., Желенина Л.А., Фаустова М.Е., Шабалин В.В. Изучение функции ресниччатого эпителия у больных муковисцидозом и хронической обструктивной болезнью легких // Пульмонология. 2001. №3. С.53–56.
8. Chilvers M.A., Rutman A., O'Callaghan C. Functional analysis of cilia and ciliated epithelial ultrastructure in healthy children and young adults // Thorax. 2003. Vol.58, №4. P.333–338.
9. Daviskas E., Rubin B.K. Effect of inhaled dry powder mannitol on mucus and its clearance // Expert. Rev. Respir. Med. 2013. Vol.7. P.65–75. doi: 10.1586/ers.12.72

10. Fabbri L.M., Mapp K.E., Hendrick D.J. Comparison of ultrasonically nebulized distilled water and hyper-ventilation with cold air in asthma // *Ann. Allergy*. 1984. Vol.53, №2. P.172–177.

11. Fedan J.S., Yuan L.X., Chang V.C., Viola J.O., Cutler D., Pettit L.L. Osmotic regulation of airway reactivity by epithelium // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999. Vol. 289, №2. P.901–910.

12. Goto D.M., Torres G.M., Seguro A.C., Saldiva P.H., Lorenzi-Filho G., Nakagawa N.K. Furosemide impairs nasal mucociliary clearance in humans // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2010. Vol.170, №3. P.246–252. doi: 10.1016/j.resp.2010.01.013

13. Grace M.S., Baxter M., Dubuis E., Birrell M.A., Belvisi M.G. Transient receptor potential (TRP) channels in the airway: role in airway disease // *Br. J. Pharmacol.* 2014. Vol.171, №10. P.2593–2607. doi: 10.1111/bph.12538

14. Hollborn M., Vogler S., Reichenbach A., Wiedemann P., Bringmann A., Kohen L. Regulation of the hyperosmotic induction of aquaporin 5 and VEGF in retinal pigment epithelial cells: involvement of NFAT5 // *Mol. Vis.* 2015. Vol.21. P.360–377.

15. Li M.C., Yang G., Zhou X.D., Tseluyko S.S., Perelman J.M. The pathophysiological mechanisms underlying mucus hyper secretion induced by cold temperatures in cigarette smoke-exposed rats // *Int. J. Mol. Med.* 2014. Vol.33, №1. P. 83–90.

16. Liedke W., Simon S. A possible role for TRPV4 receptors in asthma // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004. Vol.287, №2. L269–L271. doi: 10.1152/ajplung.00153.2004

17. Luk C.K., Dulfano M.J. Effect of pH, viscosity and ionic-strength changes on ciliary beating frequency of human bronchial explants // *Clin. Sci. (Lond.)*. 1983. Vol.64, №4. P.449–451. doi: 10.1042/cs0640449

18. Mall M.A. Role of cilia, mucus, and airway surface liquid in mucociliary dysfunction: lessons from mouse models // *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* 2008. Vol.21, №1. P.13–24. doi: 10.1089/jamp.2007.0659

19. Perelman J.M., Goryachkina N.M., Prikhodko A.G., Borodin E.A. Dynamics of oxidative stress parameters in exhaled breath condensate at controller treatment of bronchial asthma in patients with cold airway hyperresponsiveness // *Eur. Respir. J.* 2011. Vol.38, Suppl.55. P.3264.

20. Pierrou S., Broberg P., O'donnell R.A., Pawlowski K., Virtala R., Lindqvist E., Richter A., Wilson S.J., Angco G., Moller S., Bergstrand H., Koopmann W., Wieslander E., Strömstedt P.E., Holgate S.T., Davies D.E., Lund J., Djukanovic R. Expression of genes involved in oxidative stress responses in airway epithelial cells of smokers with chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007. Vol.175, №6. P.577–586. doi: 10.1164/rccm.200607-931OC

21. Satir P., Christensen S.T. Overview of structure and function of mammalian cilia // *Annu. Rev. Physiol.* 2007. Vol.69. P.377–400. doi: 10.1146/annurev.physiol.69.040705.141236

22. Trout L., King M., Feng W., Inglis S.K., Ballard S.T. Inhibition of airway liquid secretion and its effect on

the physical properties of airway mucus // *Am. J. Physiol.* 1998. Vol.274, №2(Pt1). P.258–263.

23. Wyatt T.A., Forget M.A., Adams J.M., Sisson J.H. Both cAMP and cGMP are required for maximal ciliary beat stimulation in a cell-free model of bovine ciliary axonemes // *Am. J. Physiol Lung Cell. Mol. Physiol.* 2005. Vol.288, №3. P.546–551. doi: 10.1152/ajplung.00107.2004

24. Yaghi A., Dolovich M.B. Airway Epithelial Cell Cilia and Obstructive Lung Disease // *Cells*. 2016. Vol.5, №4. P.40. doi:10.3390/cells5040040

25. Yan X., Cao G.M., Wang X.L., Zhou X.D. Study of mucus secretion and aquaporin-5 expression of bronchial epithelium cultured in hypotonic medium // *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2007. Vol.19, №4. P.214–216.

## REFERENCES

1. Bezrukov N.S., Shmatok M.I. New method of registration of cilia activity of airway ciliate. In: *Materials of the 9<sup>th</sup> International Scientific Conference "System Analysis in Medicine"*. Blagoveshchensk; 2015: 50–56 (in Russian).

2. Bezrukov N.S., Odireev A.N., Shmatok M.I. Algorithms of registration for beating cilia of ciliated epithelium. In: *Materials of the 10<sup>th</sup> International Scientific Conference "System Analysis in Medicine"*. Blagoveshchensk; 2016: 33–36 (in Russian).

3. Kolosov V.P., Manakov L.G., Kiku P.F., Polyanskaya E.V. *Respiratory diseases in the Far East of Russia: epidemiologic and social-hygienic aspects*. Vladivostok: Dal'nauka; 2013 (in Russian).

4. Perelman J.M., Prikhodko A.G., Borodin E.A., Ushakova E.V. The role of oxidative stress in airway response to hyposmolar stimulus in patients with bronchial asthma. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2014; 54:17–22 (in Russian).

5. Khizhniak J.J., Perelman J.M., Kolosov V.P. The seasonal dynamics of airway patency and reactivity in patients with bronchial asthma under monsoon climate conditions. *Pacific Medical Journal* 2009; 1:82–84 (in Russian).

6. Tseluyko S.S., Semenov D.A., Perelman J.M., Odireev A.N. Morphofunctional characteristic of mucus-producing components in rats airways under osmotic stress. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2015; 57:70–76 (in Russian).

7. Chermenskiy A.G., Gembitskaya, T.E., Sologub T.S., Orlov A.V., Mitkina E.N., Zhelenina L.A., Faustova M.E., Shabalin V.V. Study of the function of ciliated epithelium in patients with cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease. *Pul'monologiya* 2001; 3:53–56 (in Russian).

8. Chilvers M.A., Rutman A., O'Callaghan C. Functional analysis of cilia and ciliated epithelial ultrastructure in healthy children and young adults. *Thorax* 2003; 58(4):333–338.

9. Daviskas E., Rubin B.K. Effect of inhaled dry powder mannitol on mucus and its clearance. *Expert. Rev. Respir. Med.* 2013; 7:65–75. doi: 10.1586/ers.12.72

10. Fabbri L.M., Mapp K.E., Hendrick D.J. Comparison of ultrasonically nebulized distilled water and hyper-

ventilation with cold air in asthma. *Ann. Allergy* 1984; 53(2):172–177.

11. Fedan J.S., Yuan L.X., Chang V.C., Viola J.O., Cutler D., Pettit L.L. Osmotic regulation of airway reactivity by epithelium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999; 289(2):901–910.

12. Goto D.M., Torres G.M., Seguro A.C., Saldiva P.H., Lorenzi-Filho G., Nakagawa N.K. Furosemide impairs nasal mucociliary clearance in humans. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2010; 170(3):246–252. doi: 10.1016/j.resp.2010.01.013

13. Grace M.S., Baxter M., Dubuis E., Birrell M.A., Belvisi M.G. Transient receptor potential (TRP) channels in the airway: role in airway disease. *Br. J. Pharmacol.* 2014; 171(10):2593–2607. doi: 10.1111/bph.12538

14. Hollborn M., Vogler S., Reichenbach A., Wiedemann P., Bringmann A., Kohlen L. Regulation of the hyperosmotic induction of aquaporin 5 and VEGF in retinal pigment epithelial cells: involvement of NFAT5. *Mol. Vis.* 2015; 21:360–377.

15. Li M.C., Yang G., Zhou X.D., Tseluyko S.S., Perelman J.M. The pathophysiological mechanisms underlying mucus hyper secretion induced by cold temperatures in cigarette smoke-exposed rats. *Int. J. Mol. Med.* 2014; 33(1):83–90.

16. Liedke W., Simon S. A possible role for TRPV4 receptors in asthma. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2004; 287(2): L269–L271. doi: 10.1152/ajplung.00153.2004

17. Luk C.K., Dulfano M.J. Effect of pH, viscosity and ionic-strength changes on ciliary beating frequency of human bronchial explants. *Clin. Sci. (Lond.)* 1983; 64(4):449–451. doi: 10.1042/cs0640449

18. Mall M.A. Role of cilia, mucus, and airway surface liquid in mucociliary dysfunction: lessons from mouse models. *J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv.* 2008;

21(1):13–24. doi: 10.1089/jamp.2007.0659

19. Perelman J.M., Goryachkina N.M., Prikhodko A.G., Borodin E.A. Dynamics of oxidative stress parameters in exhaled breath condensate at controller treatment of bronchial asthma in patients with cold airway hyperresponsiveness. *Eur. Respir. J.* 2011; 38(Suppl.55):3264.

20. Pierrou S., Broberg P., O'donnell R.A., Pawlowski K., Virtala R., Lindqvist E., Richter A., Wilson S.J., Angco G., Moller S., Bergstrand H., Koopmann W., Wieslander E., Strömstedt P.E., Holgate S.T., Davies D.E., Lund J., Djukanovic R. Expression of genes involved in oxidative stress responses in airway epithelial cells of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175(6):577–586. doi: 10.1164/rccm.200607-931OC

21. Satir P., Christensen S.T. Overview of structure and function of mammalian cilia. *Annu. Rev. Physiol.* 2007; 69:377–400. doi: 10.1146/annurev.physiol.69.040705.141236

22. Trout L., King M., Feng W., Inglis S.K., Ballard S.T. Inhibition of airway liquid secretion and its effect on the physical properties of airway mucus. *Am. J. Physiol.* 1998; 274(2 Pt1):L258–263.

23. Wyatt T.A., Forget M.A., Adams J.M., Sisson J.H. Both cAMP and cGMP are required for maximal ciliary beat stimulation in a cell-free model of bovine ciliary axonemes. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2005; 288(3):L546–L551. doi: 10.1152/ajplung.00107.2004

24. Yaghi A., Dolovich M.B. Airway Epithelial Cell Cilia and Obstructive Lung Disease. *Cells* 2016; 5(4):40. doi:10.3390/cells5040040

25. Yan X., Cao G.M., Wang X.L., Zhou X.D. Study of mucus secretion and aquaporin-5 expression of bronchial epithelium cultured in hypotonic medium. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2007; 19(4):214–216.

Поступила 10.04.2017

Контактная информация  
Андрей Николаевич Оди́реев,  
доктор медицинских наук,

руководитель лаборатории профилактики неспецифических заболеваний легких,  
Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания,  
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: bulletin.fpd@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Andrey N. Odireev,

MD, PhD, DSc, Head of Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases,  
Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration,  
22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: bulletin.fpd@mail.ru