

# ЗНАЧЕНИЕ РАСТВОРИМЫХ МОЛЕКУЛ КЛЕТЧНОЙ АДГЕЗИИ, МЕТАБОЛИТОВ ОКСИДА АЗОТА, ЭНДОТЕЛИНА-1 И ИХ АССОЦИАЦИЙ КАК МАРКЕРОВ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ХОБЛ

DOI: 10.17691/stm2017.9.2.13

УДК 576.52:577.121:616.24–002.3–008.7–07

Поступила 14.11.2016 г.



**Н.И. Кубышева**, д.б.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Медицинская информатика» Высшей школы информационных технологий и информационных систем<sup>1</sup>;  
**Л.Б. Постникова**, д.м.н., профессор, врач-пульмонолог<sup>2</sup>;  
**С.К. Соодаева**, д.м.н., профессор, зав. лабораторией клинической и экспериментальной биофизики<sup>3</sup>;  
 профессор кафедры патологии человека Института профессионального образования<sup>4</sup>;  
**В.В. Новиков**, д.б.н., профессор, директор НИЦ молекулярной биологии и биомедицины<sup>5</sup>;  
**С.В. Шумилова**, к.б.н., научный сотрудник НИЦ молекулярной биологии и биомедицины<sup>5</sup>;  
**Е.С. Касатова**, к.б.н., старший научный сотрудник НИЦ молекулярной биологии и биомедицины<sup>5</sup>;  
**Т.И. Елисева**, д.м.н., доцент кафедры госпитальной педиатрии<sup>6</sup>;  
**С.К. Игнатов**, д.х.н., профессор кафедры фотохимии и спектроскопии<sup>5</sup>;  
**Т.В. Ли**, к.м.н., врач-невролог Центра неврологии и восстановительного лечения<sup>7</sup>;  
**И.З. Батыршин**, д.ф.-м.н., профессор Научно-исследовательского вычислительного центра<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, 420000, ул. Кремлевская, 18;

<sup>2</sup>Городская клиническая больница 38, Н. Новгород, 603005, ул. Чернышевского, 22;

<sup>3</sup>НИИ пульмонологии ФМБА России, Москва, 105077, ул. 11-я Парковая, 32;

<sup>4</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

<sup>5</sup>Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

<sup>6</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

<sup>7</sup>Центральная клиническая больница РАН, 117593, Москва, Литовский бульвар, 1а;

<sup>8</sup>Instituto Politécnico Nacional (CIC-IPN), Av. Juan de Dios Bátiz, Esq. Miguel Othón de Mendizábal S/N, Gustavo A. Madero, 07738, D.F., México

**Цель исследования** — оценить значение содержания метаболитов оксида азота, sICAM-1 и sICAM-3 в сыворотке крови и конденсате выдыхаемого воздуха, сывороточного уровня эндотелина-1 в качестве системных и топических маркеров воспаления у больных с ХОБЛ, и их корреляционные связи с параметрами вентиляционной функции легких.

**Материалы и методы.** В исследовании принимали участие 91 пациент с ХОБЛ в возрасте от 46 до 67 лет и 21 здоровый некурящий доброволец. Материалом для исследования служили образцы сыворотки крови и конденсата выдыхаемого воздуха.

**Результаты.** Прогрессирование степени тяжести ХОБЛ сопровождалось увеличением сывороточного содержания молекул sCD50, sCD54, ЭТ-1, а также концентрации метаболитов оксида азота в крови и конденсате выдыхаемого воздуха. У больных ХОБЛ установлены ассоциации параметров вентиляционной функции легких и уровня ЭТ-1, sICAM-1, sICAM-3,  $\Sigma\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ . Выявленные взаимосвязи содержания растворимых молекул адгезии с показателями маркеров нитрозативного стресса и уровнем ЭТ-1 свидетельствуют об их участии в генезе хронического воспаления у пациентов с ХОБЛ.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких; ХОБЛ; эндотелин-1; ЭТ-1; нитрозативный стресс; растворимые молекулы адгезии ICAM-1 и ICAM-3; конденсат выдыхаемого воздуха.

**Как цитировать:** Kubysheva N.I., Postnikova L.B., Soodaeva S.K., Novikov V.V., Shumilova S.V., Kasatova E.S., Eliseeva T.I., Ignatov S.K., Li T.V., Batyrshin I.Z. The significance of soluble molecules of cellular adhesion, nitric oxide metabolites, and endothelin-1 and their associations as markers of progression of inflammation in COPD. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2017; 9(2): 105–117, <https://doi.org/10.17691/stm2017.9.2.13>

**Для контактов:** Кубышева Наилия Исхаковна, e-mail: aibolit70@mail.ru

## The Significance of Soluble Molecules of Cellular Adhesion, Nitric Oxide Metabolites, and Endothelin-1 and their Associations as Markers of Progression of Inflammation in COPD

**N.I. Kubysheva**, DSc, Senior Researcher, Research Laboratory "Medical Informatics", Higher School of Information Technologies and Information Systems<sup>1</sup>;  
**L.B. Postnikova**, MD, DSc, Professor, Pulmonary Physician<sup>2</sup>;  
**S.K. Soodaeva**, MD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Clinical and Experimental Biophysics<sup>3</sup>; Professor, Department of Human Pathology, Institute of Professional Education<sup>4</sup>;  
**V.V. Novikov**, DSc, Professor, Director, Research Center for Molecular Biology and Biomedicine<sup>5</sup>;  
**S.V. Shumilova**, PhD, Researcher, Research Center for Molecular Biology and Biomedicine<sup>6</sup>;  
**E.S. Kasatova**, PhD, Senior Researcher, Research Center for Molecular Biology and Biomedicine<sup>5</sup>;  
**T.I. Eliseeva**, MD, DSc, Associate Professor, Department of Hospital Pediatrics<sup>6</sup>;  
**S.K. Ignatov**, DSc, Professor, Department of Photochemistry and Spectroscopy<sup>6</sup>;  
**T.V. Li**, MD, PhD, Neurologist, Center for Neurology and Rehabilitation<sup>7</sup>;  
**I.Z. Batyrshin**, DSc, Professor, Research Computing Center<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Kazan Federal University, 18 Kremlyovskaya St., Kazan, Republic of Tatarstan, 420000, Russian Federation;

<sup>2</sup>City Clinical Hospital No.38, 22 Chernyshevsky St., Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

<sup>3</sup>Pulmonology Research Institute, Federal Biomedical Agency of the Russian Federation, 32, 11th Parkovaya St., Moscow, 105077, Russian Federation;

<sup>4</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8/2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russian Federation;

<sup>5</sup>Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation;

<sup>6</sup>Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation;

<sup>7</sup>Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences, 1a Litovsky blvd, Moscow, 117593, Russian Federation;

<sup>8</sup>Instituto Politécnico Nacional (CIC-IPN), Av. Juan de Dios Bátiz, Esq. Miguel Othón de Mendizábal S/N, Gustavo A. Madero, 07738, D.F., México

**The aim of the investigation** was to assess the significance of the content of metabolites of the nitric oxide, sICAM-1 and sICAM-3 in blood serum and in exhaled breath condensate, the serum level of endothelin-1 as systemic and topical markers of inflammation in patients with COPD, and their correlations with the parameters of lung ventilation function.

**Materials and Methods.** 91 patients with COPD, aged from 46 to 67, and 21 healthy, non-smoking volunteers took part in the study. The material for investigation was blood serum and exhaled breath condensate.

**Results.** The severity of progression of COPD was linked with an increase in the serum content of sCD50, sCD54, ET-1, as well as in the concentrations of metabolites of nitric oxide in blood and in exhaled breath condensate. For the patients with COPD we determined the associations between the function of pulmonary ventilation and the levels of ET-1, sICAM-1, sICAM-3 and the value of  $\Sigma\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$ . The resulting correlations between the molecules of adhesion, the values of nitrosative stress, and the level of ET-1 indicate that they are involved in the genesis of chronic inflammation in patients with COPD.

**Key words:** chronic obstructive pulmonary disease; COPD; endothelin-1; ET-1; nitrosative stress; soluble molecules of adhesion ICAM-1 and ICAM-3; exhaled breath condensate.

Неуклонный рост распространенности хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и смертности при данной патологии во всем мире определяет важность исследования патогенетических механизмов развития этого заболевания [1]. Выявление новых маркеров активности и прогрессирования воспаления служит одной из ключевых задач в изучении данных механизмов.

Результатом иммуноопосредованных механизмов воспаления в ответ на повреждающие факторы явля-

ется избыточная миграция эффекторных клеток в очаг повреждения. Молекулы клеточной адгезии ICAM-1 и ICAM-3 стимулируют процесс миграции этих клеток (нейтрофилов, моноцитов, Т-лимфоцитов) через альвеоло-капиллярную мембрану в место воспаления. Данные молекулы одновременно могут быть представлены как в мембраносвязанной форме на поверхности клеток, так и в растворимом виде в различных биологических средах [2, 3]. Растворимые дифференцировочные молекулы адгезии образуются с помощью

протеолитического шеддинга мембранных белков и/или альтернативного сплайсинга матричной РНК [2]. Одним из основных механизмов иммуномодулирующего действия растворимых форм мембранных молекул является связывание лиганда и предотвращение его взаимодействия с мембранной формой антигена, а также трансигнальная функция [3–5]. Нарушение равновесия содержания изучаемых растворимых факторов может приводить к модуляции межклеточных мембранных взаимодействий и изменению иммунологической реактивности при многих заболеваниях. В настоящее время роль растворимых форм молекул клеточной адгезии ICAM-1 (sICAM-1, sCD54) и ICAM-3 (sICAM-3, sCD50) в прогрессировании системного и топического воспаления в патогенезе ХОБЛ не ясна. Однако актуальность широкого использования неинвазивных методов диагностики обуславливает исследование уровней sICAM-1 и sICAM-3 в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) у больных ХОБЛ при стабильном течении и в стадии обострения заболевания.

Растворимые формы ICAM-1 и ICAM-3 способны модулировать адгезию лейкоцитов к эндотелию сосудов и таким образом изменять функциональную активность и морфологическую структуру эндотелиальных клеток [4–7]. Повреждение эндотелия и развитие эндотелиальной дисфункции лежат в основе формирования наиболее значимых системных проявлений (коморбидных состояний) ХОБЛ и во многом обусловлены избыточным повышением секреции эндотелина-1 (ЭТ-1) в клетках сосудистого эндотелия [8]. ЭТ-1 принадлежит к регуляторным пептидам и играет ключевую роль в процессах фиброгенеза сосудистой стенки и бронхов, индукции и поддержания вазо- и бронхоконстрикции, а также неуклонного прогрессирования хронического воспаления [9]. Уровень ЭТ-1 повышается в сыворотке крови при заболеваниях, связанных с курением, эндотелиальной дисфункцией и легочной гипертензией [10–12]. Обнаружено, что у больных ХОБЛ концентрация ЭТ-1 в крови, мокроте и КВВ взаимосвязана с уровнем парциального давления кислорода в артериальной крови [13, 14]. Вместе с тем требуются дальнейшие исследования для определения информативности изменений продукции ЭТ-1 при прогрессировании функциональных и структурных респираторных нарушений с учетом тяжести и стадии ХОБЛ.

Развитие эндотелиальной дисфункции патогенетически связано с изменениями секреции оксида азота (NO), который обладает широким спектром биорегуляторного действия [15]. Основным источником образования молекул NO является индуцибельная форма NO-синтазы (iNOS), концентрация которой резко возрастает во время интенсификации воспалительного процесса при многих заболеваниях [16]. Активное образование оксида азота и его метаболитов приводит к повреждению белков и липидов клеточных мембран, блокирует синтез ДНК, усиливает интенсивность оксидативного и нитрозативного стресса, нарушает

структуру сосудистого эндотелия. При воспалении NO также может синтезироваться и неэнзиматическим путем за счет восстановления нитритов и нитратов до оксида азота [17, 18]. Ранее в наших работах было продемонстрировано повышение концентрации метаболитов оксида азота в КВВ по мере снижения уровня контроля бронхиальной астмы [19], а также увеличение системных и топических уровней производных NO и их взаимосвязь с маркерами апоптоза как в респираторном тракте, так и в циркуляции у пациентов с обострением ХОБЛ [20]. В то же время особенности изменений индикаторов нитрозативного стресса в различные периоды ХОБЛ (стабильное течение или обострение) остаются малоизученной проблемой.

Для более полного понимания патогенетических механизмов прогрессирования ХОБЛ существует необходимость мониторинга маркеров эндотелиальной дисфункции, нитрозативного стресса и иммунного ответа в различные стадии и фазы заболевания, а также анализа взаимосвязей между рассматриваемыми индикаторами хронического воспаления.

**Цель исследования** — оценить значение содержания метаболитов оксида азота, sICAM-1 и sICAM-3 в сыворотке крови и в конденсате выдыхаемого воздуха, сывороточного уровня эндотелина-1 в качестве системных и топических маркеров воспаления у больных с ХОБЛ и их корреляционные связи с параметрами вентиляционной функции легких.

**Материалы и методы.** Диагноз ХОБЛ устанавливали в соответствии с критериями Глобальной инициативы по хронической обструктивной болезни легких (GOLD) [1]. Согласно определению GOLD, обострение ХОБЛ — это острое событие, характеризующееся ухудшением респираторных симптомов, которое выходит за пределы нормальных повседневных колебаний и приводит к изменению используемой терапии.

В исследование было включено 112 человек. Группу сравнения составили здоровые некурящие добровольцы (n=21), пациентов с ХОБЛ (n=91) разделили на четыре группы:

ХОБЛ средней степени тяжести в стадии обострения (n=21) — GOLD IIоб;

ХОБЛ средней степени тяжести в стадии стабильного течения (n=23) — GOLD IIст;

ХОБЛ тяжелой степени тяжести в стадии обострения (n=22) — GOLD IIIоб;

ХОБЛ тяжелой степени тяжести в фазе стабильного течения (n=25) — GOLD IIIст.

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией, принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия), и одобрено Этическим комитетом НИИ пульмонологии ФМБА. От каждого пациента получено информированное согласие.

Были отобраны больные, отвечающие следующим критериям: возраст старше 40 лет; стаж курения  $\geq 10$  пачек/лет; частично обратимая бронхиальная обструкция после применения бронходилататора корот-

Таблица 1

**Функциональные характеристики пациентов с ХОБЛ и здоровых некурящих добровольцев (X±σ)**

Характеристики	Здоровые некурящие (контроль)	ХОБЛ	
		GOLD II	GOLD III
Количество	21	44	47
Возраст, лет	53,1±7,8	56,1±4,6	63,2±4,3
Индекс курения, пачек/лет	0	37,5±5,8	39,2±4,2
ОФВ1, %	105,7±3,9	62,8±4,6	40,5±3,9
ОФВ1/ФЖЕЛ, %	108,1±3,7	61,6±4,4	49,1±7,9
Емкость вдоха, %	110,1±2,52	68,6±7,9	63,1±7,5

кого действия ( $30\% \leq \text{ОФВ1} \leq 80\%$ ;  $\text{ОФВ1}/\text{ФЖЕЛ} < 70\%$ , где ОФВ1 — объем форсированного выдоха за 1 с; ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких;  $\text{ОФВ1}/\text{ФЖЕЛ}$  — индекс Тиффно); клинические симптомы обострения ХОБЛ (усиление кашля, одышки, изменение характера и/или объема мокроты).

Критерии исключения: бронхиальная астма и другие аллергические заболевания; пневмония на момент госпитализации; выраженная застойная сердечная недостаточность; тяжелая артериальная гипертензия; декомпенсированный сахарный диабет; состояния, требующие длительного приема системных глюкокортикоидов.

Исследование функции внешнего дыхания проводили на компьютерном спирографе SpiroLab III (MIR, Италия) путем анализа кривой «поток–объем» и оценки показателей ОФВ1 и  $\text{ОФВ1}/\text{ФЖЕЛ}$ , емкости вдоха. Функциональные характеристики больных ХОБЛ представлены в табл. 1.

*Подготовка сыворотки крови и конденсата выдыхаемого воздуха.* Из срединной локтевой вены утром натощак у обследованных пациентов собирали образцы крови, которые сразу центрифугировали при 3000 об./мин в течение 10 мин. Сыворотки экстрагировались и хранились при температуре  $-80^\circ\text{C}$ .

Сбор КВВ осуществляли в течение 20 мин после полоскания ротовой полости с помощью системы RTube (Respiratory Research, США), исключающей попадание слюны в КВВ.

*Содержание ЭТ-1* в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью набора реагентов Biomedica Gruppe (Австрия) по методике, описанной производителем.

*Определение метаболитов оксида азота в сыворотке крови и конденсате выдыхаемого воздуха.* Суммарную концентрацию  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  ( $\Sigma\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ ) в КВВ и содержание нитритов ( $\text{NO}_2^-$ ) в сыворотке крови определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактива Грисса и кадмиевого восстановителя при длине волны 540 нм с помощью прибора Humalazer 2000 (Human GmbH, Германия) [21].

*Определение содержания растворимых молекул адгезии sICAM-1 и sICAM-3.* Содержание этих молекул

в сыворотке и КВВ измеряли с помощью иммуноферментного анализа. При определении их концентрации использовали козы поликлональные антитела против лейкоцитарных антигенов человека и мышинные моноклональные антитела ИКО-60 и ИКО-184 против антигенов CD54 и CD50, конъюгированных с пероксидазой хрена [22]. Измерение проводили с помощью ИФА-ридера Multiscan MC (Labsystems, Финляндия) при длине волны 405 нм. Результаты представлены в условных единицах на миллилитр (U/ml).

*Статистический анализ.* Данные представлены как среднее арифметическое ± стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ). Для определения распределения нормальности использован тест Шапиро–Уилка. Дальнейшую обработку результатов проводили с применением анализа ANOVA и t-теста Стьюдента. Для оценки степени корреляции использовали критерий корреляции Пирсона (r). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Статистический анализ выполнен при помощи компьютерных прикладных программ BIOSTAT и Statgraphics v. 5.

**Результаты.** Сывороточная концентрация ЭТ-1 у всех обследованных пациентов была статистически значимо выше по сравнению со здоровыми некурящими добровольцами ( $0,67 \pm 0,27$  фмоль/мл; ANOVA,  $p = 0,006$ ) (рис. 1). Не обнаружено существенных различий в концентрации ЭТ-1 в фазе обострения и при стабильном течении ХОБЛ внутри каждой группы пациентов. В то же время отмечалась тенденция линейного повышения уровня изучаемого пептида с увеличением тяжести ХОБЛ. Концентрация ЭТ-1 у пациентов группы GOLD III об была в 1,4 раза выше, чем в группе GOLD II об ( $2,73 \pm 1,51$  и  $1,99 \pm 0,81$  фмоль/мл соответственно,  $p = 0,04$ ). Выявлены негативные связи между значением емкости вдоха и сывороточным содержанием ЭТ-1 ( $r = -0,53$ ;  $p = 0,02$ ) у всех обследованных пациентов с ХОБЛ (табл. 2).

Уровень метаболитов оксида азота в сыворотке крови и КВВ у пациентов с ХОБЛ был значимо выше, чем у здоровых некурящих добровольцев (ANOVA,  $p = 0,001$  и  $p = 0,002$  соответственно) (рис. 2).

Существенных различий в концентрации продуктов оксида азота в сыворотке крови и КВВ в стабильный период и при обострении у пациентов групп GOLD II, GOLD III не обнаружено. Зарегистрировано прогрессирующее повышение содержания  $\text{NO}_2^-$  в циркуляции крови и  $\Sigma\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  — в КВВ у больных ХОБЛ с нарастанием степени тяжести бронхиальной обструкции. Сывороточная концентрация  $\text{NO}_2^-$  у больных с обострением ХОБЛ тяжелой степени тяжести ( $7,4 \pm 3,7$  мкмоль/мл) и в стабильный период ( $8,2 \pm 4,6$  мкмоль/мл) была в 1,8 раза выше, чем у пациентов групп GOLD II в аналогичные периоды заболевания ( $p = 0,001$  и  $p = 0,002$  соответственно).

Суммарная концентрация  $\Sigma\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  в КВВ у всех пациентов с ХОБЛ групп GOLD III ( $11,4 \pm 5,7$  мкмоль/мл

**Рис. 1. Содержание эндотелина-1 в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ при обострении и в стабильный период**

\* — статистически значимая разница значений со здоровыми некурящими,  $p < 0,05$ ; # — с пациентами со средней степенью тяжести ХОБЛ в период обострения;  $p < 0,05$

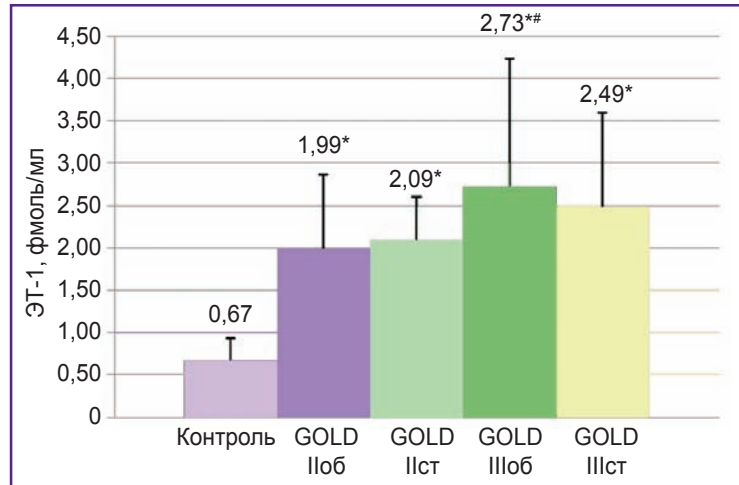
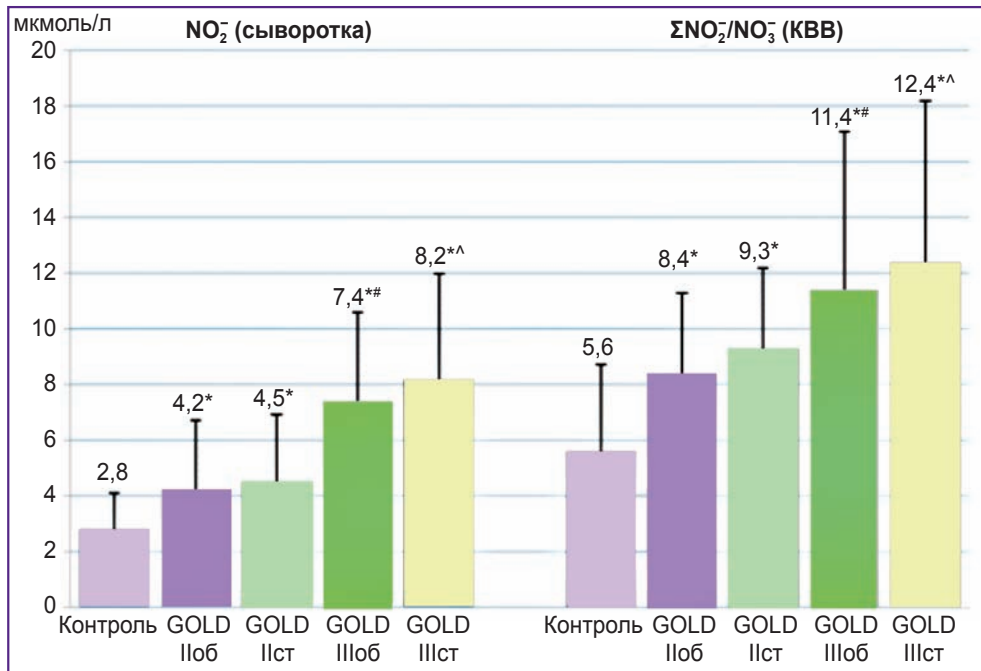


Таблица 2

**Корреляции между содержанием ЭТ-1,  $\text{NO}_2^-$ , sICAM-1, sICAM-3,  $\Sigma\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  в различных биологических жидкостях и параметрами функции внешнего дыхания у пациентов с ХОБЛ**

Исследуемые показатели	ОФВ1, %	ОФВ1/ФЖЕЛ, %	Емкость вдоха, %
Эндотелин-1 (сыворотка)	$r = -0,25$ ; $p = 0,24$	$r = -0,29$ ; $p = 0,21$	$r = -0,53$ ; $p = 0,02$
$\Sigma\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ (КВВ)	$r = -0,31$ ; $p = 0,09$	$r = -0,17$ ; $p = 0,32$	$r = -0,65$ ; $p = 0,01$
$\text{NO}_2^-$ (сыворотка)	$r = -0,28$ ; $p = 0,26$	$r = -0,28$ ; $p = 0,24$	$r = -0,21$ ; $p = 0,35$
sICAM-1 (сыворотка)	$r = -0,43$ ; $p = 0,03$	$r = -0,3$ ; $p = 0,1$	$r = -0,48$ ; $p = 0,35$ (GOLD III)
sICAM-1 (КВВ)	$r = -0,26$ ; $p = 0,28$	$r = 0,51$ ; $p = 0,01$	$r = 0,15$ ; $p = 0,4$
sICAM-3 (сыворотка)	$r = 0,27$ ; $p = 0,26$	$r = -0,31$ ; $p = -0,09$	$r = -0,56$ ; $p = 0,02$ (GOLD III)
sICAM-3 (КВВ)	$r = 0,1$ ; $p = 0,65$	$r = -0,25$ ; $p = -0,32$	$r = -0,28$ ; $p = 0,31$



**Рис. 2. Уровень нитритов ( $\text{NO}_2^-$ ) в сыворотке крови и суммарная концентрация  $\Sigma\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  в конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ при обострении и в стабильный период**

\* — статистически значимая разница значений со здоровыми некурящими,  $p < 0,05$ ; # — с пациентами со средней степенью тяжести ХОБЛ в период обострения,  $p < 0,05$ ; ^ — с пациентами со средней степенью тяжести ХОБЛ в стабильный период,  $p < 0,05$

при обострении и  $12,4 \pm 5,8$  мкмоль/мл в стабильную фазу) в 1,3 раза превышала уровень изучаемых молекул в группах GOLD II ( $p=0,028$  и  $p=0,026$  соответственно) (см. рис. 2). Выявлена отрицательная корреляция между эндобронхиальной концентрацией  $\Sigma NO_2^- / NO_3^-$  и емкостью вдоха EB% (где EB% — доля от должествующих величин) ( $r=-0,65$ ;  $p=0,01$ ) у всех обследованных пациентов с ХОБЛ (см. табл. 2).

У всех обследованных больных ХОБЛ выявлена положительная корреляция ( $r=0,39$ ;  $p=0,04$ ) между сывороточной концентрацией ЭТ-1 и  $NO_2^-$  (табл. 3). Кроме того, у пациентов со средней степенью тяжести заболевания между изучаемыми молекулярными маркерами обнаружена высокая степень корреляции ( $r=0,72$ ;  $p=0,001$ ).

Концентрация sICAM-1 в сыворотке крови и КВВ у всех обследованных пациентов ХОБЛ была статистически значимо выше, чем в группе контроля (ANOVA,  $p=0,006$  и  $p=0,001$  соответственно) (рис. 3).

Концентрация sICAM-3 в КВВ повышалась у всех обследованных больных с ХОБЛ по сравнению со здоровыми некурящими лицами ( $220,2 \pm 81,1$  U/ml; ANOVA,  $p=0,05$ ) и статистически значимо не различалась между группами пациентов GOLD II и GOLD III (рис. 4). В то же время сывороточный уровень sICAM-3 превышал значения контрольной группы ( $351,4 \pm 45,7$  U/ml) только при тяжелой степени тяжести ХОБЛ ( $p<0,05$ ).

Обнаружено, что увеличение концентрации sICAM-1 и sICAM-3 связано с прогрессированием степени тяжести ХОБЛ. Их содержание у пациентов групп GOLD III было статистически значимо выше, чем в группах GOLD IIоб и GOLD IIст ( $p<0,05$ ).

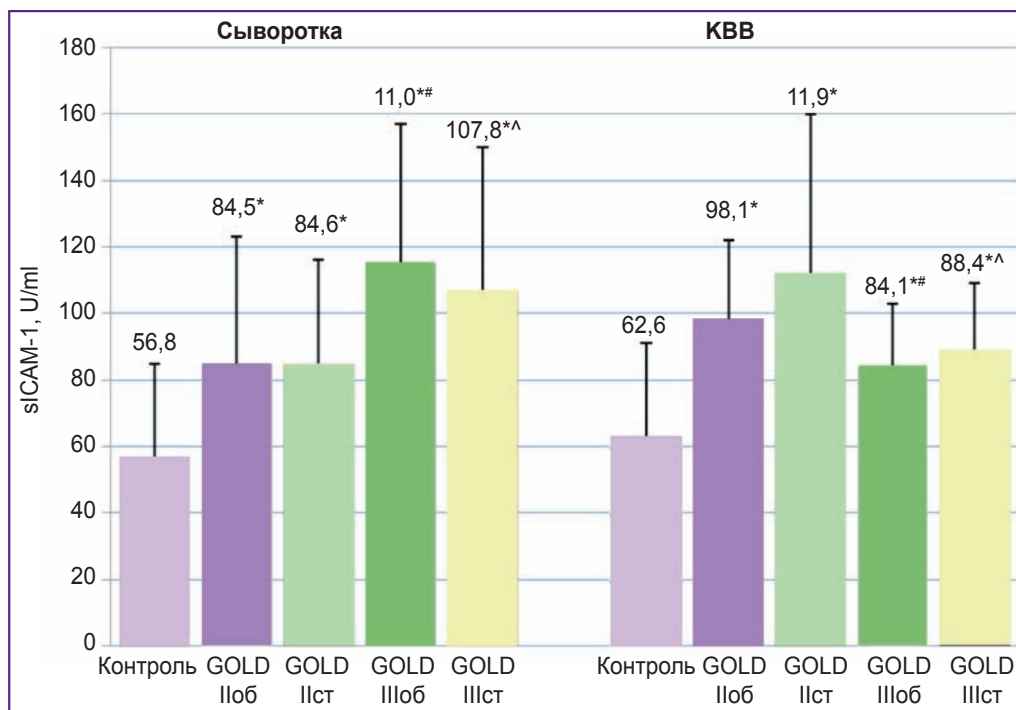
В КВВ уровень sCD54 молекул при тяжелой степени тяжести ХОБЛ был статистически значимо ниже значений в группе пациентов с умеренными бронхообструктивными нарушениями ( $p<0,05$ ).

Существенных различий в содержании молекул

Таблица 3

**Корреляции между содержанием ЭТ-1,  $NO_2^-$  и концентрацией sICAM-1, sICAM-3 в различных биологических жидкостях у пациентов с ХОБЛ**

Исследуемые показатели	Эндотелин-1 (сыворотка)	sICAM-1 (сыворотка)	sICAM-1 (КВВ)	sICAM-3 (сыворотка)	sICAM-3 (КВВ)
Эндотелин-1 (сыворотка)	—	$r=0,73$ ; $p=0,01$	$r=0,17$ ; $p=0,34$	$r=0,45$ ; $p=0,03$	$r=0,25$ ; $p=0,28$
$NO_2^-$ (сыворотка)	$r=0,39$ ; $p=0,01$	$r=0,3$ ; $p=0,21$	$r=0,31$ ; $p=0,28$	$r=0,24$ ; $p=0,25$	$r=0,47$ ; $p=0,03$



**Рис. 3. Концентрация молекул sICAM-1 в сыворотке крови и конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ при обострении и в стабильный период**

\* — статистически значимая разница значений со здоровыми некурящими,  $p<0,05$ ; # — с пациентами со средней степенью тяжести ХОБЛ в период обострения,  $p<0,05$ ; ^ — с пациентами со средней степенью тяжести ХОБЛ в стабильный период,  $p<0,05$

sCD50 и sCD54 в биологических жидкостях при обострении и в стабильную фазу внутри обеих групп пациентов с ХОБЛ не выявлено.

Анализ ассоциаций между содержанием растворимых молекул sICAM-1 и sICAM-3, а также показателями нитрозативного стресса, эндотелиальной дис-

функции и параметрами функции внешнего дыхания выявил следующие корреляции:

положительную корреляцию между сывороточной концентрацией sICAM-1 и sICAM-3 ( $r=0,62$ ;  $p=0,0001$ ) (рис. 5);

положительную корреляцию между сывороточным

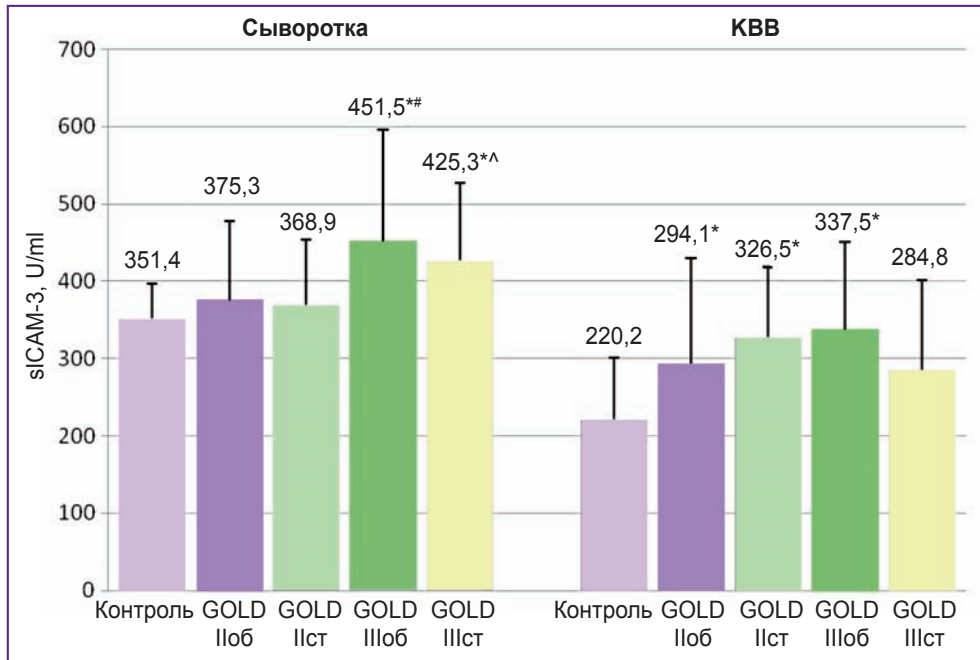


Рис. 4. Концентрация молекул sICAM-3 в сыворотке крови и конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ при обострении и в стабильный период

\* —  $p < 0,05$  в сравнении со здоровыми некурящими; # — с пациентами со средней степенью тяжести ХОБЛ в период обострения,  $p < 0,05$ ; ^ — с пациентами со средней степенью тяжести ХОБЛ в стабильный период,  $p < 0,05$

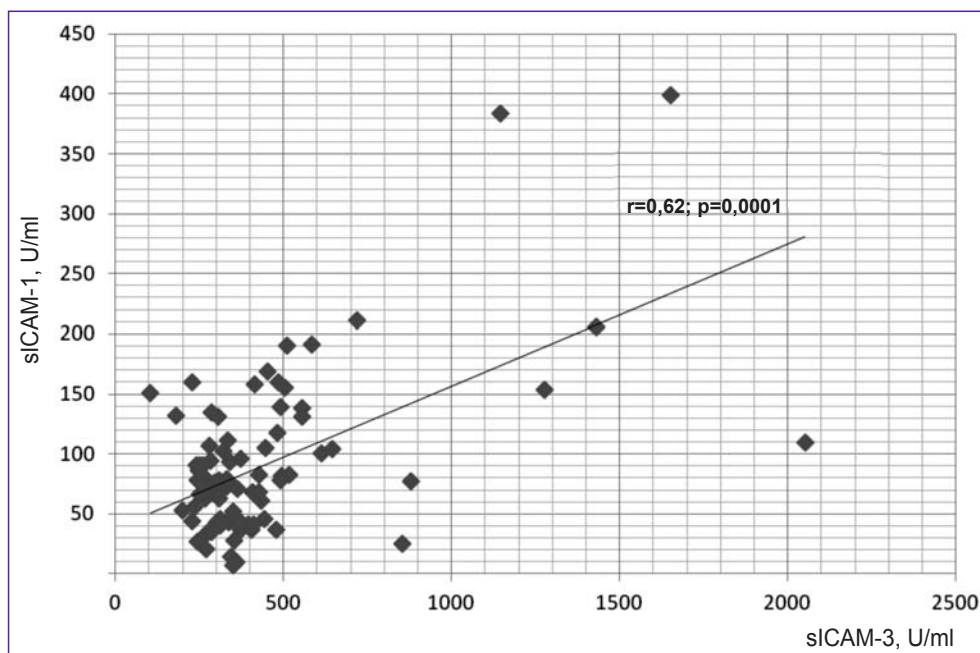


Рис. 5. Корреляция между уровнями sICAM-1 и sICAM-3 в сыворотке крови у больных ХОБЛ

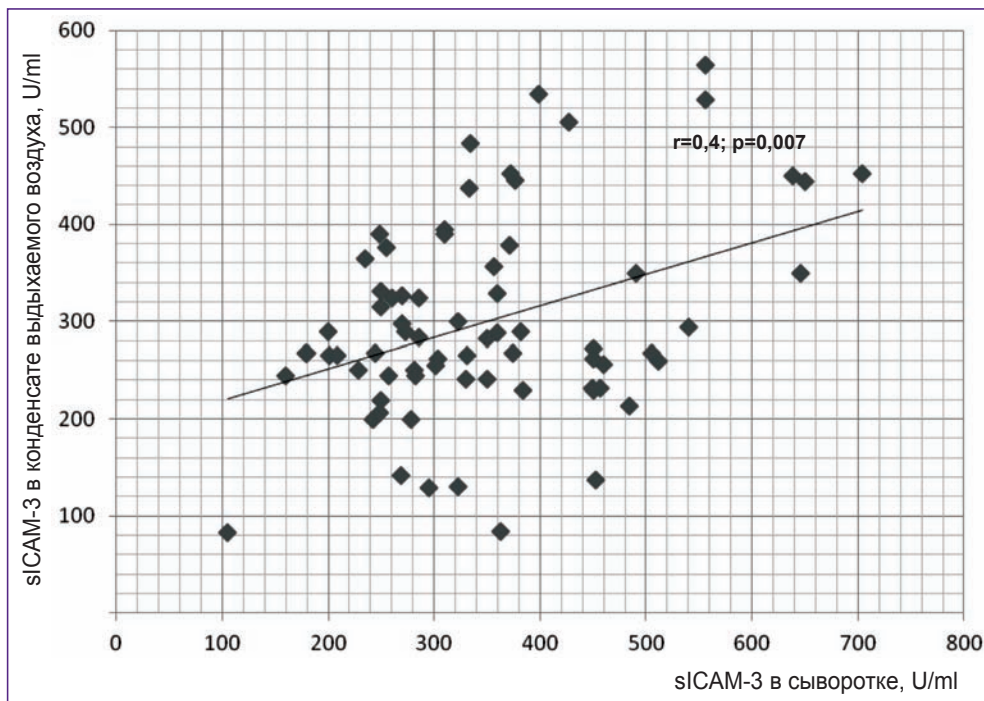


Рис. 6. Корреляция между сывороточным уровнем sICAM-3 и концентрацией sICAM-3 в конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ

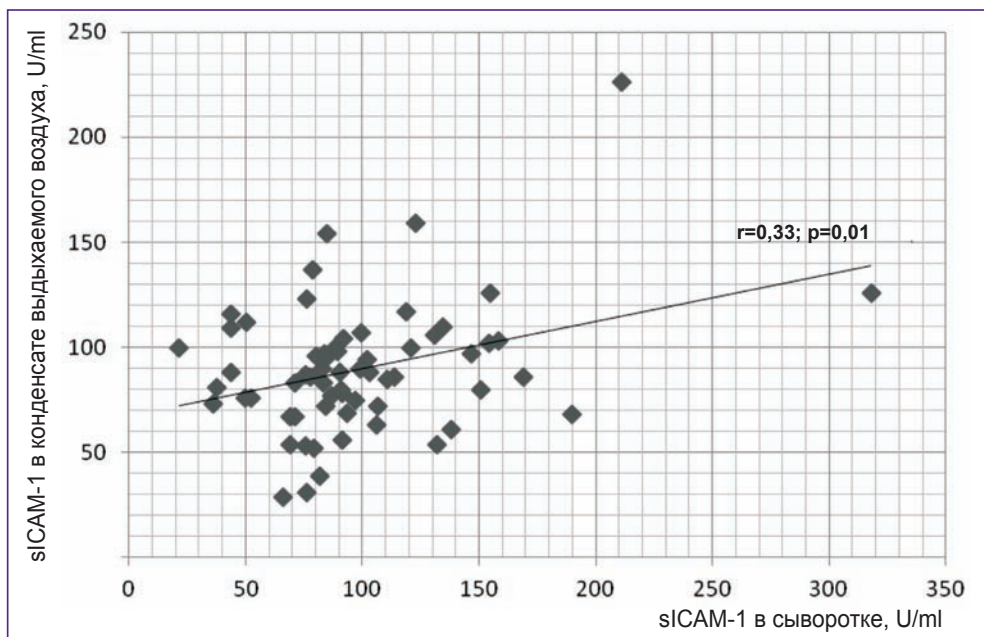


Рис. 7. Корреляция между сывороточным уровнем sICAM-1 и концентрацией sICAM-1 в конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ

уровнем sICAM-3 и концентрацией sICAM-3 в КВВ ( $r=0,4$ ;  $p=0,007$ ) (рис. 6);

положительную корреляцию между уровнем sICAM-1 и концентрацией sICAM-1 в КВВ ( $r=0,33$ ;  $p=0,01$ ) (рис. 7);

отрицательную корреляцию между сывороточ-

ным уровнем sICAM-1 и ОФВ1 ( $r=-0,43$ ;  $p=0,03$ ) (см. табл. 2);

положительную корреляцию между уровнем sICAM-1 в КВВ и значением ОФВ1/ФЖЕЛ ( $r=0,51$ ;  $p=0,01$ ) (см. табл. 2);

отрицательную корреляцию между емкостью вдо-



ха и концентрациями sICAM-1 ( $r=-0,48$ ;  $p=0,03$ ) и sICAM-3 ( $r=-0,56$ ;  $p=0,02$ ) у пациентов с тяжелой ХОБЛ (см. табл. 2);

положительную корреляцию между ЭТ-1 и концентрациями sICAM-1 ( $r=0,73$ ;  $p=0,01$ ) и sICAM-3 ( $r=0,45$ ;  $p=0,03$ ) (см. табл. 3);

положительную корреляцию между уровнем sICAM-3 в КВВ и концентрацией  $\text{NO}_2^-$  ( $r=0,47$ ;  $p=0,03$ ) (см. табл. 3).

**Обсуждение.** Результаты настоящего исследования показали избыточное накопление сывороточного и эндобронхиального содержания растворимых молекул адгезии ICAM-1 у всех пациентов с ХОБЛ по сравнению с контролем. Концентрация циркулирующих sICAM-3 молекул повышалась только при тяжелой степени тяжести заболевания. Вместе с тем на топическом уровне отмечался подъем содержания данных белков во всех группах больных ХОБЛ по сравнению со здоровыми некурящими лицами. Следует отметить, что увеличение концентрации данных растворимых белков в циркуляции ассоциировалось с ухудшением бронхиальной проводимости при ХОБЛ. Зарегистрированная линейная зависимость содержания sICAM-1 и уровня sICAM-3 в сыворотке крови подтверждает однонаправленность в изменении продукции тестируемых маркеров воспаления при прогрессировании ХОБЛ.

При обострении и в стабильную фазу заболевания концентрации исследуемых растворимых белков в изучаемых биологических средах внутри каждой группы существенно не различались. Таким образом, изменение содержания sICAM-1 и sICAM-3 не зависит от стадии ХОБЛ.

Функциональное значение растворимых молекул sICAM-1 и sICAM-3 определяется их участием в модуляции иммунного ответа [4, 5]. В частности, они могут ингибировать активацию, адгезию и миграцию клеток. Растворимые молекулы CD54 способны конкурировать с мембранной формой ICAM-1 за связывание с антигенами LFA-1 и Mac-1 на лимфоцитах и моноцитах и тем самым снижать адгезию лейкоцитов к эндотелию [2, 4, 5]. Молекулы sCD50, взаимодействуя с гомологичными рецепторами на поверхности антигенпрезентирующих клеток, способны блокировать инициацию процессов иммунного ответа [2]. Таким образом, избыточная продукция циркулирующих молекул sICAM-1 и sICAM-3 у пациентов с ХОБЛ может быть частью рестриктирующего механизма, направленного на торможение чрезмерной миграции воспалительных клеток во флогогенный участок, и в итоге способна привести к нарушению адекватного иммунного ответа. В этом случае увеличение концентрации рассматриваемых растворимых молекул в сочетании с прогрессированием бронхиальной обструкции может служить неблагоприятным прогнозирующим фактором при ХОБЛ, поскольку способность эффекторных клеток к выполнению их функции в очаге воспаления блокируется. Тем не менее воз-

можно, что повышенные концентрации растворимых молекул CD54 и CD50 в циркуляции могут оказывать противовоспалительные эффекты и стимулировать самоограничивающие механизмы воспалительного ответа. Ранее Н. Schmal с соавт. [23] предположили, что в легких sICAM-1 может функционировать в качестве как провоспалительного, так и противовоспалительного медиатора в зависимости от анатомической локализации шеддинга этого белка. Было показано, что сход молекул ICAM-1 с поверхности макрофагов и эпителиальных клеток в дистальных отделах респираторного тракта приводит к усилению повреждения легочной ткани вследствие активации альвеолярных макрофагов и их стимуляции к избыточной продукции цитокинов — MIP-2 и TNF- $\alpha$ . Учитывая, что при ХОБЛ деструкции наиболее подвержены в первую очередь дистальные отделы дыхательных путей, высокие концентрации s-формы протеинов CD54 могут играть значимую роль в прогрессировании воспалительного ответа в респираторном тракте.

Таким образом, повышенные концентрации циркулирующих растворимых молекул адгезии на системном уровне могут тормозить развитие воспалительных процессов, а локальный подъем содержания данных протеинов, наоборот, может усиливать воспаление в респираторном тракте.

Корреляционный анализ выявил позитивные связи между сывороточным и топическим содержанием тестируемых растворимых молекул адгезии, что может свидетельствовать о тождественности механизмов, регулирующих продукцию данных молекул в ответ на развитие системных и местных воспалительных реакций при ХОБЛ.

Высокие концентрации растворимых молекул CD50 и CD54 могут быть обусловлены интенсивным высвобождением данных протеинов с поверхности антигенпозитивных клеток. Известно, что активированные эндобронхиальные эпителиальные клетки, эндотелиальные клетки, фибробласты и альвеолярные макрофаги являются потенциальными источниками растворимых молекул ICAM-1 и ICAM-3 [23–27]. На усиленное образование молекул адгезии могут оказывать свое влияние и гипоксические факторы. Хроническая гипоксия у пациентов с тяжелой и крайне тяжелой степенью тяжести ХОБЛ реализует свое негативное влияние на ряд патогенетических звеньев. С. Madjdour с соавт. [28] продемонстрировали, что при длительной гипоксии активируется избыточная продукция TNF- $\alpha$  и гипоксического индуцибельного фактора  $\alpha$  (HIF- $\alpha$ ) альвеолярными макрофагами и, как следствие, стимулируется высвобождение растворимых молекул ICAM-1. Вместе с тем известно, что молекулы sCD54 принимают участие в инициации секретиции эндотелиальными клетками и лейкоцитами таких воспалительных медиаторов, как IL-8, IL-6, TNF- $\alpha$ ,  $\gamma$ -INF [23, 29]. Вышеперечисленные факторы в совокупности могут привести к созданию порочного круга и поддерживать прогрессирование системного воспали-

тельного процесса, деструктивных процессов в респираторном тракте и нарушений легочной вентиляции у больных с ХОБЛ.

С целью уточнения роли растворимых молекул адгезии в генезе нарушений вентиляционной функции легких у больных ХОБЛ проведен корреляционный анализ между содержанием sCD50 и sCD54 и показателями функции внешнего дыхания. Установлено, что снижение значений ОФВ<sub>1</sub> у пациентов с ХОБЛ сочеталось с увеличением концентрации sICAM-1. В связи с тем, что ОФВ<sub>1</sub> отражает степень бронхиальной обструкции, можно предположить, что уровень sICAM-1 в крови может рассматриваться в качестве маркера прогрессирования нарушений бронхиальной проходимости.

Несмотря на повышение концентрации растворимых молекул в КВВ у всех больных ХОБЛ, уровень sCD54 при тяжелой степени заболевания был статистически значимо ниже значений у пациентов групп GOLD II. Снижение топической концентрации ICAM-1 может быть обусловлено дезактивацией клеток-продуцентов вследствие супрессии иммунного ответа в условиях индукции фиброгенеза и ремоделирования легочной ткани при тяжелом течении ХОБЛ. Кроме того, падение уровня sICAM-1 в КВВ в группах GOLD III может быть обусловлено усилением запрограммированной гибели клеток, продуцирующих данные растворимые молекулы адгезии в респираторном тракте. Подтверждением этой гипотезы могут служить результаты нашего предыдущего исследования, в котором было продемонстрировано увеличение маркеров апоптоза в дыхательных путях у пациентов с тяжелой ХОБЛ [20].

Выявленная позитивная ассоциация между уровнем sICAM-1 в КВВ и ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ подтверждает закономерность снижения топического содержания этого маркера воспаления с ростом тяжести заболевания. Кроме того, установленные связи позволяют рассматривать содержание sICAM-1 в КВВ в качестве неинвазивного маркера прогрессирования ХОБЛ.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет отнести изменения содержания молекул адгезии ICAM-1 и ICAM-3, представленных в растворимой форме в крови и КВВ, к важным патогенетическим механизмам развития системного и топического воспаления при ХОБЛ.

Среди большого спектра флогогенных молекул, влияющих на развитие системного воспаления при ХОБЛ, следует выделить вазоактивный медиатор ЭТ-1 [30]. Результаты настоящего исследования показали увеличение сывороточного уровня данного пептида у всех пациентов с ХОБЛ по сравнению с контролем. Максимальное накопление ЭТ-1 в крови обнаружено у больных с тяжелой степенью заболевания в стадии обострения. Таким образом, активация воспалительного процесса у пациентов с выраженными бронхообструктивными нарушениями характеризуется повышенным высвобождением ЭТ-1 в кровь эндотелиальными клетками.

Функциональная способность ЭТ-1 характеризуется плейотропностью. Известно, что избыточное накопление данного вазоактивного пептида в ответ на реализацию эндотелиальной дисфункции приводит к инициации фиброгенеза в легких, индукции вазо- и бронхоконстрикции [9, 13, 31, 32]. По всей вероятности, повышение концентрации ЭТ-1 в крови является одним из неблагоприятных факторов, влияющих на процессы ремоделирования бронхолегочной ткани в условиях активации и прогрессирования хронического воспаления при ХОБЛ.

ЭТ-1 также влияет на миграцию воспалительных клеток, изменяет их активность и адгезивные свойства [32, 33]. Обнаруженная позитивная ассоциация уровня ЭТ-1 и содержания sICAM-1 и sICAM-3 в сыворотке крови может указывать на общий механизм участия изучаемых биомаркеров в модуляции иммунологических реакций и клеточной миграции.

Линейная зависимость повышения уровня метаболитов оксида азота в крови и КВВ и прогрессирования степени тяжести ХОБЛ может свидетельствовать о патогенетической роли нитрозативного стресса в развитии системного и топического воспаления при данном заболевании. Увеличение синтеза оксида азота может быть вызвано активацией индуцибельной NO-синтазы, которая экспрессируется в макрофагах, нейтрофилах, тучных, эндотелиальных, эпителиальных и гладкомышечных клетках [16, 34]. Повышенное образование NO-метаболитов в дыхательных путях при ХОБЛ может быть связано с воздействием таких факторов, как патогенные бактерии и вирусы, вдыхание различных экзогенных соединений, включая сигаретный дым, диоксид азота и мелкодисперсные частицы [35–37]. Кроме того, продемонстрировано [38, 39], что увеличение количества продуктов оксида азота сопряжено с нарастанием гипоксии у больных с тяжелой степенью ХОБЛ. Все вышеперечисленные факторы могут способствовать накоплению NO и его производных как в дыхательных путях, так и во всем организме.

В настоящей работе установлено, что увеличение содержания нитритов (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) в сыворотке крови ассоциировалось с ростом содержания ЭТ-1 у всех пациентов с ХОБЛ. Известно, что ЭТ-1 и NO могут синтезироваться одними и теми же клетками — эпителиоцитами, альвеолярными макрофагами, нейтрофилами и фибробластами [9, 15]. Активация этих клеток при хроническом воспалении способствует одновременному высвобождению различных вазоактивных медиаторов, и таким образом не исключается совместное участие ЭТ-1 и NO в прогрессировании системного воспалительного процесса при ХОБЛ.

Мы обнаружили положительные корреляционные связи между сывороточной концентрацией нитритов и топическим уровнем sICAM-3. Молекулы ICAM-3 играют определенную роль в инициации первичного контакта между Т-лимфоцитами и антигенпредставляющими клетками в процессе иммунного ответа [40].

Растворимая молекула sCD50, напротив, участвует в подавлении иммунной реакции путем связывания с рецепторными молекулами на поверхности антиген-представляющих клеток [40]. Таким образом, молекулы ICAM-3 в высоких концентрациях могут оказывать блокирующий эффект на процессы формирования иммунного синапса и презентации антигена, тем самым нарушая адекватный иммунный ответ. Наблюдаемая связь между топическим содержанием sICAM-3 и сывороточным уровнем нитрита может свидетельствовать о возможности нарушения презентации антигена под влиянием нитрозативного стресса в дыхательных путях у больных ХОБЛ, что может быть одной из причин обострения заболевания и/или прогрессирования воспаления.

Патогенетическая значимость исследуемых медиаторов воспаления в механизмах развития ХОБЛ подтверждается наличием отрицательных ассоциаций между сывороточными уровнями ЭТ-1, sICAM-1, sICAM-3, топической концентрацией  $\Sigma\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  и таким показателем функции внешнего дыхания, как емкость вдоха. Известно, что снижение емкости вдоха связано с таким патофизиологическим нарушением, как развитие легочной гиперинфляции, которая проявляется нарастанием гипоксии и нарушением газового обмена. Выявленные ассоциации могут свидетельствовать о системном влиянии ЭТ-1, циркулирующих молекул адгезии ICAM-1 и sICAM-3 на структурные и функциональные изменения в дыхательной системе с усилением степени тяжести ХОБЛ. Вместе с этим активация нитрозативного стресса в дыхательных путях связано с прогрессированием гиперинфляции и развитием гипоксии в условиях тяжелого воспаления при данной патологии.

**Заключение.** Полученные нами данные свидетельствуют о том, что эндотелин-1, метаболиты оксида азота, sICAM-1 и sICAM-3 играют важную роль в патогенезе бронхиальной обструкции и неуклонном прогрессировании топического и системного хронического воспаления при ХОБЛ.

Установленные ассоциации параметров вентиляционной функции легких и комплекса исследуемых маркеров воспаления у пациентов с ХОБЛ позволяют говорить о целесообразности определения сывороточного и топического содержания sICAM-1, sICAM-3, уровня эндотелина-1 в циркуляции, суммарной концентрации  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  в качестве дополнительных системных и топических в КВВ индикаторов степени тяжести заболевания.

Выявленные взаимосвязи содержания растворимых молекул адгезии CD50 и CD54, эндотелина-1 и маркеров нитрозативного стресса дают возможность более полно представить патогенетические механизмы прогрессирования хронического воспаления как в респираторном тракте, так и на системном уровне у пациентов с ХОБЛ.

**Финансирование исследования.** Работа частично была поддержана проектами 156150 и 240844

КОНАСИТ, Мéxico и №20.223.2014/К и 15-01-06456 РФФИ России, профинансирована субсидией Программы конкурентоспособного роста Правительства России Казанского федерального университета.

**Конфликт интересов.** У авторов нет конфликта интересов.

## Литература/References

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). *Global strategy for diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease*. NHLBI/WHO workshop report. Last updated 2013.
2. Новиков В.В., Евсегнеева И.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы при социально значимых инфекциях. *Российский биотерапевтический журнал* 2005; 4(2): 100–105. Novikov V.V., Evsegneeveva I.V., Karaulov A.V., Baryshnikov A.Yu. Soluble forms of membrane antigens of immune system cells in social infections. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* 2005; 4(2): 100–105.
3. Rothlein R., Mainolfi E.A., Czajkowski M., Marlin S.D. A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol* 1978; 121(11): 3788–3793.
4. Bleijs D.A., Geijtenbeek T.B., Figdor C.G., van Kooyk Y. DC-SIGN and LFA-1: a battle for ligand. *Trends Immunol* 2001; 22(8): 457–463.
5. Kusterer K., Bojunga J., Enghofer M., Heidenthal E., Usadel K.H., Kolb H., Martin S. Soluble ICAM-1 reduces leukocyte adhesion to vascular endothelium in ischemia-reperfusion injury in mice. *Am J Physiol* 1998; 275(2 Pt 1): G377–G380.
6. Ridker P.M., Hennekens C.H., Roitman-Johnson B., Stampfer M.J., Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998; 351(9096): 88–92, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(97\)09032-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(97)09032-6).
7. Constans J., Conri C. Circulating markers of endothelial function in cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta* 2006; 368(1–2): 33–47, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.12.030>.
8. Kwon Y.S., Chi S.Y., Shin H.J., Kim E.Y., Yoon B.K., Ban H.J., Oh I.J., Kim K.S., Kim Y.C., Lim S.C. Plasma C-reactive protein and endothelin-1 level in patients with chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary hypertension. *J Korean Med Sci* 2010; 25(10): 1487–1491, <https://doi.org/10.3346/jkms.2010.25.10.1487>.
9. Wort S.J., Woods M., Warner T.D., Evans T.W., Mitchell J.A. Endogenously released endothelin-1 from human pulmonary artery smooth muscle promotes cellular proliferation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25(1): 104–110, <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.25.1.4331>.
10. Santos S., Peinado V.I., Ramírez J., Melgosa T., Roca J., Rodriguez-Roisin R., Barberà J.A. Characterization of pulmonary vascular remodelling in smokers and patients with mild COPD. *Eur Respir J* 2002; 19(4): 632–638, <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00245902>.
11. Wright J.L., Tai H., Churg A. Cigarette smoke induces persisting increases of vasoactive mediators in pulmonary arteries. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31(5): 501–509, <https://doi.org/10.1165/rcmb.2004-0051oc>.

12. Dominguez-Avila N., Ruiz-Castañeda G., González-Ramírez J., Fernandez-Jaramillo N., Escoto J., Sánchez-Muñoz F., Marquez-Velasco R., Bojalil R., Espinosa-Cervantes R., Sánchez F. Over, and underexpression of endothelin 1 and TGF-beta family ligands and receptors in lung tissue of broilers with pulmonary hypertension. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 190382, <https://doi.org/10.1155/2013/190382>.
13. Carratu P., Scoditti C., Maniscalco M., Seccia T.M., Di Gioia G., Gadaleta F., Cardone R.A., Dragonieri S., Pierucci P., Spanevello A., Resta O. Exhaled and arterial levels of endothelin-1 are increased and correlate with pulmonary systolic pressure in COPD with pulmonary hypertension. *BMC Pulm Med* 2008; 8(1): 20, <https://doi.org/10.1186/1471-2466-8-20>.
14. Roland M. Sputum and plasma endothelin-1 levels in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2001; 56(1): 30–35, <https://doi.org/10.1136/thorax.56.1.30>.
15. Bourque S.L., Davidge S.T., Adams M.A. The interaction between endothelin-1 and nitric oxide in the vasculature: new perspectives. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011; 300(6): R1288–R1295, <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00397.2010>.
16. Nussler A.K., Billiar T.R. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol* 1993; 54(2): 171–178.
17. Zweier J.L., Samouilov A., Kuppusamy P. Non-enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1411(2–3): 250–262, [https://doi.org/10.1016/s0005-2728\(99\)00018-3](https://doi.org/10.1016/s0005-2728(99)00018-3).
18. Dejam A., Hunter C.J., Schechter A.N., Gladwin M.T. Emerging role of nitrite in human biology. *Blood Cells Mol Dis* 2004; 32(3): 423–429, <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2004.02.002>.
19. Елисеева Т.И., Кульпина Ю.С., Соодаева С.К., Кубышева Н.И. Содержание метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха у детей с различным уровнем контроля бронхиальной астмы. Современные технологии в медицине 2010; 4: 42–47. Eliseeva T.I., Kulpina Yu.S., Soodaeva S.K., Kubysheva N.I. Content of the nitrogen oxide metabolites in a condensate of exhaling air in children with a bronchial asthma control different level. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2010; 4: 42–47.
20. Kubysheva N., Soodaeva S., Postnikova L., Novikov V., Maksimova A., Chuchalin A. Associations between indicators of nitrosative stress and levels of soluble HLA-I, CD95 molecules in patients with COPD. *COPD* 2014; 11(6): 639–644, <https://doi.org/10.3109/15412555.2014.898042>.
21. Лисица А.В., Соодаева С.К., Климанов И.А., Чучалин А.Г. Динамика показателей окислительного стресса у больных, переносящих обострение бронхиальной астмы, на фоне ингаляционной терапии липосомальными препаратами. Пульмонология 2010; 1: 74–79. Lisitsa A.V., Soodaeva S.K., Klimanov I.A., Chuchalin A.G. Changes of oxidative stress parameters in patients with exacerbation of asthma under therapy with inhaled liposomal drugs. *Russian Pulmonology* 2010; 1: 74–79.
22. Mamaeva M.E., Alyasova A.V., Shumilova S.V., Kazatskaya Zh.A., Khazov M.V., Churkina N.N., Novikov V.V. Prognostic value of blood serum content of soluble CD50 and CD54 molecules in patients with uterine and cervical cancer. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2015; 7(4): 141–146, <https://doi.org/10.17691/stm2015.7.4.19>.
23. Schmal H., Czermak B.J., Lentsch A.B., Bless N.M., Beck-Schimmer B., Friedl H.P., Ward P.A. Soluble ICAM-1 activates lung macrophages and enhances lung injury. *J Immunol* 1998; 161(7): 3685–3693.
24. Zhang X., Wang L., Zhang H., Guo D., Zhao J., Qiao Z., Qiao J. The effects of cigarette smoke extract on the endothelial production of soluble intercellular adhesion molecule-1 are mediated through macrophages, possibly by inducing TNF-alpha release. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2002; 24(5): 261–265, <https://doi.org/10.1358/mf.2002.24.5.802302>.
25. Togo S., Holz O., Liu X., Sugiura H., Kamio K., Wang X., Kawasaki S., Ahn Y., Fredriksson K., Skold C.M., Mueller K.C., Branscheid D., Welker L., Watz H., Magnussen H., Rennard S.I. Lung fibroblast repair functions in patients with chronic obstructive pulmonary disease are altered by multiple mechanisms. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178(3): 248–260, <https://doi.org/10.1164/rccm.200706-929oc>.
26. Leeuwenberg J.F., Smeets E.F., Neeffjes J.J., Shaffer M.A., Cinek T., Jeunhomme T.M., Ahern T.J., Buurman W.A. E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 are released by activated human endothelial cells in vitro. *Immunology* 1992; 77(4): 543–549.
27. Zandvoort A., van der Geld Y.M., Jonker M.R., Noordhoek J.A., Vos J.T., Wesseling J., Kauffman H.F., Timens W., Postma D.S. High ICAM-1 gene expression in pulmonary fibroblasts of COPD patients: a reflection of an enhanced immunological function. *Eur Respir J* 2006; 28(1): 113–122, <https://doi.org/10.1183/09031936.06.00116205>.
28. Madjdpour C., Jewell U.R., Kneller S., Ziegler U., Schwendener R., Booy C., Kläusli L., Pasch T., Schimmer R.C., Beck-Schimmer B. Decreased alveolar oxygen induces lung inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284(2): L360–L367, <https://doi.org/10.1152/ajplung.00158.2002>.
29. Barnett C.C. Jr., Moore E.E., Moore F.A., Carl V.S., Biffl W.L. Soluble ICAM-1 (sICAM-1) PROvokes PMN elastase release. *J Surg Res* 1996; 63(1): 6–10, <https://doi.org/10.1006/jsre.1996.0213>.
30. Spiropoulos K., Trakada G., Nikolaou E., Prodromakis E., Efremidis G., Pouli A., Koniavitou A. Endothelin-1 levels in the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. *Respir Med* 2003; 97(8): 983–989, [https://doi.org/10.1016/s0954-6111\(03\)00129-x](https://doi.org/10.1016/s0954-6111(03)00129-x).
31. Shi-Wen X., Denton C.P., Dashwood M.R., Holmes A.M., Bou-Gharios G., Pearson J.D., Black C.M., Abraham D.J. Fibroblast matrix gene expression and connective tissue remodeling: role of endothelin-1. *J Invest Dermatol* 2001; 116(3): 417–425, <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2001.01256.x>.
32. Abraham D. Role of endothelin in lung fibrosis. *Eur Respir Rev* 2008; 17(109): 145–150, <https://doi.org/10.1183/09059180.00010907>.
33. Teder P., Noble P.W. A cytokine reborn? Endothelin-1 in pulmonary inflammation and fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23(1): 7–10, <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.23.1.f192>.
34. Dinakar C., Malur A., Raychaudhuri B., Buhrow L.T., Melton A.L., Kavuru M.S., Thomassen M.J. Differential regulation of human blood monocyte and alveolar macrophage inflammatory cytokine production by nitric oxide. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82(2): 217–222, [https://doi.org/10.1016/s1081-1206\(10\)62600-2](https://doi.org/10.1016/s1081-1206(10)62600-2).
35. Folkerts G., Kloek J., Muijsers R.B., Nijkamp F.P.

Reactive nitrogen and oxygen species in airway inflammation. *Eur J Pharmacol* 2001; 429(1–3): 251–262, [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(01\)01324-3](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(01)01324-3).

36. Krishna M.T., Chauhan A.J., Frew A.J., Holgate S.T. Toxicological mechanisms underlying oxidant pollutant-induced airway injury. *Rev Environ Health* 1998; 13(1–2): 59–71.

37. Morrison D., Rahman I., Lannan S., MacNee W. Epithelial permeability, inflammation, and oxidant stress in the air spaces of smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(2): 473–479, <https://doi.org/10.1164/ajrccm.159.2.9804080>.

38. Clini E., Bianchi L., Pagani M., Ambrosino N.

Endogenous nitric oxide in patients with stable COPD: correlates with severity of disease. *Thorax* 1998; 53(10): 881–883, <https://doi.org/10.1136/thx.53.10.881>.

39. Franciosi L.G., Page C.P., Celli B.R., Cazzola M., Walker M.J., Danhof M., Rabe K.F., Della Pasqua O.E. Markers of disease severity in chronic obstructive pulmonary disease. *Pulm Pharmacol Ther* 2006; 19(3): 189–199.

40. Woska J.R. Molecular comparison of soluble intercellular adhesion Molecule (sICAM)-1 and sICAM-3 binding to lymphocyte function-associated antigen-1. *J Biol Chem* 1998; 273(8): 4725–4733, <https://doi.org/10.1074/jbc.273.8.4725>.