

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИРОВАНИЯ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ-2
НА АКТИВНОСТЬ ГИПОКСИЙНОГО СИГНАЛИНГА
ПРИ ОБСТРУКТИВНОЙ ПАТОЛОГИИ ЛЕГКИХ**

© О. Н. Титова,¹ Н. А. Кузубова,¹ Е. С. Лебедева,¹
Е. А. Суркова,¹ Т. Н. Преображенская^{2, 3}

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: osmelena@mail.ru

² Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова,
Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

На модели хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), индуцированной у крыс 60-дневным воздействием диоксида азота, оценивали влияние ингибирования циклооксигеназы-2 (COX-2) на активность гипоксия-индуцибельного фактора-1 α (HIF-1 α) и выраженность воспалительного процесса в легких. Определяли клеточный состав бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ), содержание в ней провоспалительных медиаторов (COX-2, HIF-1 α , IL-17) и сурфактантного протеина D (SP-D). Применение ингибитора COX-2 цеlexоксифа сопровождалось уменьшением содержания в БАЛЖ COX-2, HIF-1 α , IL-17 и нормализацией цитологического профиля, что свидетельствовало о снижении активности гипоксийного сигналинга и воспалительного процесса. Увеличение концентрации SP-D можно рассматривать как следствие восстановления морфологической структуры бронхоальвеолярного эпителия, являющейся основой его функциональной полноценности и барьерной целостности. Полученные результаты подтверждают тесную функционально-регуляторную связь HIF-1 α - 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, циклооксигеназа-2, гипоксия-индуцибельный фактор-1 α , интерлейкин-17, сурфактантный протеин D, воспаление.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 1. С. 114—121. 2018

O. N. Titova,¹ N. A. Kuzubova,¹ E. S. Lebedeva,¹ E. A. Surkova,¹ T. N. Preobrazhenskaya.^{2, 3}
EFFECT OF CYCLOOXYGENASE-2 INHIBITION ON HYPOXIC SIGNALING ACTIVITY
IN OBSTRUCTIVE LUNG PATHOLOGY. ¹ Scientific Research Institute of Pulmonology at
Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia, e-mail: osmele-
na@mail.ru; ² Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia; ³ Saint Petersburg State
University, St. Petersburg, Russia.

Effect of cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibition on the hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) activity and severity of pulmonary inflammatory response was evaluated on the chronic obstructi-

ve pulmonary disease (COPD) model produced in rats by 60-day exposure to nitrogen dioxide. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) cytogram was determined. The levels of proinflammatory mediators (COX-2, HIF-1 α , IL-17) and surfactant protein D (SP-D) were measured in BALF. The use of the COX-2 inhibitor celecoxib was accompanied by a decrease in the BALF levels of COX-2, HIF-1 α , IL-17, and BALF cytological profile normalization, indicating a decrease in the hypoxia signaling and inflammatory process activities. The increase of SP-D concentration can be considered as a consequence of the restoration of the bronchoalveolar epithelium morphological structure, which is the basis of epithelium functional usefulness and barrier integrity. The results confirm the close functional-regulatory relationship of HIF-1 α - and COX-2-signaling cascades, which can be a therapeutic target for preventing the progression of inflammation and airway remodeling in COPD.

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

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 1. P. 114—121. 2018

Одним из ключевых факторов развития и прогрессирования хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) является гипоксия-индуцибельный фактор-1 α (HIF-1 α), транскрипционная активность которого связана с экспрессией гипоксия-зависимых генов, многих провоспалительных факторов и генов, вовлеченных в ремоделирование дыхательных путей, ангиогенез и энергетический метаболизм [4, 7, 25]. Повышенные уровни HIF-1 α определяются в сыворотке крови и легочной ткани как пациентов с ХОБЛ, так и курильщиков с нормальной легочной функцией [18, 30]. Воспаленная слизистая бронхов представляет собой гипоксическую среду, для которой характерно увеличение экспрессии HIF-1 α [7, 14]. Активация HIF-1 α подавляет врожденные иммунные механизмы защиты, присутствующие клеткам бронхоальвеолярного эпителия [24], усиливает апоптоз альвеолоцитов 2-го типа, препятствуя заживлению эпителия после повреждения [31], изменяет профиль геной экспрессии альвеолоцитов 2-го типа и угнетает экспрессию сурфактантных протеинов [16]. Для хронического воспаления характерно усиление экспрессии индуцибельной циклооксигеназы-2 (COX-2) — фермента, катализирующего превращение арахидоновой кислоты в простагландины (PG), в частности, провоспалительный PGE2. Высказывается предположение о функциональной связи HIF-1 α - и COX-2-сигнальных каскадов, обеспечивающих интеграцию воспалительных и гипоксических регуляторных механизмов в патогенезе заболеваний дыхательных путей [5, 37].

Цель исследования состояла в предотвращении активации гипоксийного сигналинга на модели ХОБЛ путем подавления COX-2-зависимого провоспалительного каскада посредством терапии с использованием селективного блокатора COX-2.

МЕТОДИКА

Опыты выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой 150—170 г разводки питомника лабораторных животных «Раполово» РАН. Исследования проводились в соответствии с приказом МЗСР РФ № 708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики». Модель формирования ХОБЛ воспроизводили с помощью ингаляционного воздействия диоксида азота (30—40 мг/м³) [2]. Ингаляции проводили в прерывистом режиме (3 экспозиции в день по 30 мин с полчасовым интервалом между ними) на протяжении 60 дней. После 30 дней воздействия диоксида азота животные ($n = 22$) были разделены случайным образом на две группы по 11 особей в каждой. Ежедневно в течение последующих 30 дней (перед каждой экспозицией диоксидом азота) животным 1-й группы через пищеводный зонд вводили высокоселективный ингибитор циклооксигеназы-2 целекоксиб (Celebrex, Pfizer, Германия) в дозе 25 мг/кг. Дозу рассчитывали исходя из суточной дозы, рекомендованной для человека, с учетом

межвидового пересчета. Животным 2-й (контрольной) группы ($n = 11$) аналогичным способом вводили 0.9%-ный раствор натрия хлорида. Девять особей составили интактную группу. Эвтаназию осуществляли методом цервикальной дислокации.

Бронхоальвеолярный лаваж выполняли на изолированных легких стерильным физиологическим раствором (35—37 °С). Лаважную жидкость собирали в силиконизированные пробирки, после центрифугирования определяли общее и дифференциальное содержание клеток в 1.0 мл. В пробах бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) определяли содержание циклооксигеназы-2 (СОХ-2), гипоксия-индуцибельного фактора-1 α (HIF-1 α), интерлейкина-17 (IL-17) и сурфактантного протеина D (SP-D) методом иммуноферментного анализа ELISA с использованием видоспецифичных коммерческих тест-систем фирмы Cusabio Biotech (Китай).

Статистическую обработку выполняли с помощью пакета программ Statistica 6.0 (Windows) с применением критерия достоверности Стьюдента. Количественные данные представляли как среднее \pm ошибка среднего ($M \pm m$). Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вдыхание пневмотоксиканта диоксида азота, являющегося важным компонентом сигаретного дыма, активирует эпителиальные клетки бронхов, либо непосредственно воздействуя на рецепторы распознавания, такие как Toll-подобные рецепторы, либо опосредованно через выделение молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (DAMP) [11]. Активированные бронхиальные эпителиоциты реализуют провоспалительные цитокины и хемокины, которые рекрутируют в бронхоальвеолярное пространство клетки воспаления. После 60-дневной экспозиции диоксидом азота содержание нейтрофилов и лимфоцитов в БАЛЖ контрольных крыс превышало значения в интактной группе соответственно в 4.3 ($p < 0.05$) и 1.8 раза ($p < 0.05$) (табл. 1), что свидетельствовало о выраженном воспалительном процессе в легочной ткани.

Под влиянием провоспалительных цитокинов и факторов роста в очаге воспаления различными типами клеток (мононуклеарными лейкоцитами, фибробластами, гладкомышечными и эндотелиальными клетками сосудов) индуцируется синтез СОХ-2. После 60-дневной экспозиции диоксидом азота содержание СОХ-2 в БАЛЖ контрольных крыс почти в 2 раза превышало значение в интактной группе ($p < 0.05$) (табл. 2). Концентрация провоспалительного цитокина IL-17, основным продуцентом которого являются CD4+Th17-клетки и в меньшей степени нейтрофилы и CD8+Th17-клетки [34], в контроле была в 2.7 раза больше, чем у интактных крыс ($p < 0.05$) (табл. 2). Содержание HIF-1 α в БАЛЖ крыс кон-

Т а б л и ц а 1

Влияние ингибирования циклооксигеназы-2 (СОХ-2) на клеточный состав бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс ($M \pm m$)

Показатель, %	Интактная группа	Модель ХОБЛ (контроль)	Модель ХОБЛ + целекоксиб
Макрофаги	85.7 \pm 1.9	57.7 \pm 6.9*	86.4 \pm 2.3**
Нейтрофилы	5.2 \pm 0.5	25.8 \pm 6.2*	6.8 \pm 0.8**
Лимфоциты	9.1 \pm 1.9	16.5 \pm 2.1*	6.8 \pm 0.9**

Примечание (здесь и в табл. 2). Различие достоверно ($p < 0.05$): *с интактной группой; **с группой «Модель ХОБЛ».

Т а б л и ц а 2

Влияние ингибирования СОХ-2 на иммуноферментный профиль
 бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс (M ± m)

Показатель, пг/мл	Интактная группа	Модель ХОБЛ (контроль)	Модель ХОБЛ + целекоксиб
СОХ-2	15.86 ± 1.35	26.53 ± 2.30*	18.83 ± 2.19**
IL-17	71.58 ± 6.79	100.77 ± 7.40*	56.83 ± 11.87**
НIF-1α	0.59 ± 0.14	1.58 ± 0.44*	0.43 ± 0.11**
SP-D	83.67 ± 7.96	55.25 ± 8.21*	142.97 ± 8.75**

трольной группы в 3 раза превышало интактное значение (табл. 2). На фоне активации воспалительного процесса содержание SP-D, являющегося компонентом врожденной эпителиальной иммунной защиты, снижалось в БАЛЖ контрольных крыс на 34 % от уровня интактной группы ($p < 0.05$) (табл. 2), что могло быть связано с повреждением легочного эпителия, апоптозом секретирующих SP-D альвеолоцитов 2-го типа и нецилиарных клеток бронхиол (клеток Клара) и «утечкой» SP-D в системный кровоток [4].

Результатом применения с 31-го по 60-й день экспозиции диоксидом азота ингибитора СОХ-2 целекоксиба было снижение концентраций СОХ-2, IL-17 и НIF-1α в БАЛЖ до значений, достоверно не отличавшихся от интактной группы (табл. 2). 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 макрофагов (табл. 1). Значительно возрастало содержание SP-D в лаважной жидкости, превысив в 2.6 раза значения контрольной группы ($p < 0.05$) и в 1.7 раза интактный уровень ($p < 0.05$) (табл. 2).

Таким образом, применение ингибитора СОХ-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 (СОХ-2, IL-17, НIF-1α). 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.

Нейтрофильно-лимфоцитарное воспаление, развивающееся под влиянием 60-дневного воздействия диоксида азота, является характерным признаком ХОБЛ. В привлечении нейтрофилов в дыхательные пути участвует опосредованный IL-17A экстраклеточный цитокиновый сигналинг, регулирующий врожденный иммунный ответ легочных эпителиоцитов [19, 23]. Существенную часть клеточного инфильтрата легких при ХОБЛ составляют клетки фенотипа CD8(+)IL-17 [8]. Интерлейкину-17 отводится важная роль в формировании лимфоидных фолликулов в легочной ткани, наличие которых является признаком прогрессирования воспаления [33] и характерно для модели ХОБЛ, использованной в данной работе [1, 2]. Увеличение экспрессии IL-17A обнаружено в легочной паренхиме и бронхах больных со стабильным течением ХОБЛ [6, 10], регулярных курильщиков [19] и мышшей, экспонированных сигаретным дымом [8, 27]. В недавней работе Н. Yanagisawa и соавт. [34] рассматривают IL-17A как патогенную изоформу семейства IL-17, а его рецептор (IL-17RA) как релевантный рецептор воспаления и фиброза бронхов при ХОБЛ. Ингибирование IL-17A путем введения моноклональных антител снижало уровни IL-17A и IL-8 в БАЛЖ, уменьшало приток нейтрофилов и ослабляло проявления хронического воспаления дыхательных путей, вызванного воздействием озона [36].

Индукция СОХ-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 [32, 35]. Существуют различные предположения относительно механизмов, регулирующих активность СОХ-2-провоспалительного сигнального каскада в легких. Так, репаративный и противовоспалительный эффект введения в эмфизематозные легкие мезенхимальных стволовых клеток связывают с уменьшением экспрессии СОХ-2 и продукции PGE₂ посредством блокирования внутриклеточных киназных сигнальных путей p38 MAPK и ERK [12]. Доказано супрессорное действие RelB, члена семейства транскрипционного ядерного фактора NF-κB, на экспрессию СОХ-2 в структурных клетках легких, вызванную сигаретным дымом [28, 35]. По мнению авторов, этот механизм может быть опосредован осью RelB-микроРНК-146a, которая представляет собой новый регуляторный путь, способствующий снижению воспаления в ответ на действие пневмотоксикантов [28, 35]. Исходя из результатов настоящего исследования можно говорить о СОХ-2-опосредованном влиянии на HIF-1α-сигналинг и цитоиммунологический паттерн, формирующийся в очаге воспаления в процессе воспроизведения модели ХОБЛ.

Воспалительному процессу в бронхах всегда сопутствует гипоксическая среда, при которой возрастает экспрессия HIF-1α [7, 14]. Гипоксия увеличивала экспрессию HIF-1α в культуре альвеолоцитов 2-го типа крысы и их апоптоз по сравнению с клетками, культивируемыми при нормоксии, при этом значительно возрастала экспрессия гена-мишени HIF-1α — Vp13L на уровне мРНК и белка [13]. Активировать HIF-1α также могут негипоксические стимулы: например, провоспалительные цитокины TNFα/IL-4 индуцировали экспрессию HIF-1α в эпителиоцитах бронхов человека в условиях нормоксии [17]. В представленном исследовании повышение уровня HIF-1α в БАЛЖ коррелировало с увеличением концентраций провоспалительных СОХ-2 и IL-17. Высокие уровни экспрессии HIF-1α и NF-κB и сниженное содержание SP-D определялись в сыворотке крови пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна [22]. Подобные изменения наблюдались в БАЛЖ крыс с индуцированной диоксидом азота ХОБЛ: повышению содержания HIF-1α сопутствовало падение концентрации SP-D (табл. 2). М. Huang и соавт. [15] установили, что HIF-1α стимулирует экспрессию фермента СОХ-2 и способствует эпителиально-мезенхимальной трансформации. Под воздействием экстракта сигаретного дыма в культуре клеток альвеолярного эпителия человека A549 и легочной ткани мышей выявлен HIF-1α-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 [9]. В процессе формирования ХОБЛ аналогичные изменения наблюдали в эпителиальной выстилке тонкого кишечника, имеющей, как и легочный эпителий, энтодермальное происхождение: увеличение экспрессии HIF-1α вело к нарушению плотных межклеточных контактов и барьерной функции эпителия [20]. Увеличение экспрессии HIF-1α могло подавлять секрецию из альвеолоцитов 2-го типа сурфактантного белка 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 [4, 29]. Подавить транскрипционную активность HIF-1α удавалось путем блокирования внутриклеточных сигнальных киназных путей PI3K-mTOR и NF-κB [17].

Критическую роль в регуляции экспрессии HIF-1α играет катализируемая СОХ-2 продукция PGE₂ [21], поэтому вполне обоснованным было предположение, что селективные ингибиторы СОХ-2 могут подавлять активность HIF-1α, влиять на ядерную релокализацию и предотвращать индукцию транскрипции

многочисленных HIF-1 α -опосредованных генов. Селективный ингибитор COX-2 (NS398) снижал экспрессию мРНК HIF-1 α , уменьшал синтез HIF-1 α и его транскрипционную активность по COX-2/PGE₂-зависимому механизму, подавляя активацию внутриклеточного PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути [37]. 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 [26].

Результаты проведенного исследования впервые позволяют говорить 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-1 α 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, могла способствовать восстановлению нарушенной в процессе формирования модели ХОБЛ внеклеточной IL-17-зависимой сигнализации. Значительное повышение секреции сурфактантного белка D можно рассматривать как следствие восстановления морфологической структуры бронхоальвеолярного эпителия, являющейся основой его функциональной полноценности и барьерной целостности. Результаты исследования могут стать основой нового подхода к патогенетическому лечению ХОБЛ, при котором превентивное ингибирование транскрипционного генного регулятора гипоксического сигналинга HIF-1 α посредством блокирования COX-2 позволит предотвратить прогрессирование воспаления и аномальное ремоделирование дыхательных путей и легочной ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Двораковская И. В., Кузубова Н. А., Фионик А. М., Платонова И. С., Лебедева Е. С., Данилов Л. Н. Патологическая анатомия бронхов и респираторной ткани крыс при воздействии диоксида азота. Пульмонология. 1 : 54—61. 2009.
- [2] Лебедева Е. С., Кузубова Н. А., Данилов Л. Н., Титова О. Н., Двораковская И. В., Преображенская Т. Н., Платонова И. С. Воспроизведение в эксперименте хронической обструктивной болезни легких. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 152 (11) : 596—600. 2011.
- [3] Лямина С. В., Мальшиев И. Ю. Сурфактантный белок D в норме и при заболеваниях легких. Рос. мед. журн. 1 : 50—55. 2012.
- [4] Серебровская Т. В. Гипоксия-индуцибельный фактор: роль в патофизиологии дыхания (обзор). Укр. пульмонол. журн. 3 : 77—81. 2005.
- [5] Bruning U., Fitzpatrick S. F., Frank T., Birtwistle M., Taylor C. T., Cheong A. NF κ B and HIF display synergistic behaviour during hypoxic inflammation. Cell Mol. Life Sci. 69 (8) : 1319—1329. 2012.
- [6] 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. 96 (26) : 2086—2090. 2016.
- [7] Clerici C., Planès C. Gene regulation in the adaptive process to hypoxia in lung epithelial cells. Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 296 (3) : L267—L274. 2009.
- [8] Duan M. C., Zhang J. Q., Liang Y., Liu G. N., Xiao J., Tang H. J., Liang Y. Infiltration of IL-17-producing T cells and Treg cells in a mouse model of smoke-induced emphysema. Inflammation. 39 (4) : 1334—1344. 2016.
- [9] Eurlings I. M., Reynaert N. L., van den Beucken T., Gosker H. R., de Theije C. C., Verhamme F. M., Bracke K. R., Wouters E. F., Dentener M. A. Cigarette smoke extract induces a phenotypic shift in epithelial cells; involvement of HIF1 α in mesenchymal transition. PLoS One. 9 (10) : e107757. 2014.

- [10] *Eustace A., Smyth L. J., Mitchell L., Williamson K., Plumb J., Singh D.* Identification of cells expressing interleukin-17A and F in the lungs of COPD patients. *Chest*. 139 (5) : 1089—1100. 2011.
- [11] *Gao W., Li L., Wang Y., Zhang S., Adcock I. M., Barnes P. J., Huang M., Yao X.* Bronchial epithelial cells: The key effector cells in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Respirology*. 20 (5) : 722—729. 2015.
- [12] *Gu W., Song L., Li X. M., Wang D., Guo X. J., Xu W. G.* Mesenchymal stem cells alleviate airway inflammation and emphysema in COPD through down-regulation of cyclooxygenase-2 via p38 and ERK MAPK pathways. *Sci. Rep.* 5 : 8733. 2015.
- [13] *He X. Y., Shi X. Y., Yuan H. B., Xu H. T., Li Y. K., Zou Z.* Propofol attenuates hypoxia-induced apoptosis in alveolar epithelial type II cells through down-regulating hypoxia-inducible factor-1 α . *Injury*. 43 (3) : 279—283. 2012.
- [14] *Hoenderdos K., Lodge K. M., Hirs R. A., Chen C., Palazzo S. G., Emerenciana A., Summers C., Angyal A., Porter L., Juss J. K., O'Callaghan C., Chilvers E. R., Condliffe A. M.* Hypoxia upregulates neutrophil degranulation and potential for tissue injury. *Thorax*. 71 (11) : 1030—1038. 2016.
- [15] *Huang M., Wang L., Chen J., Bai M., Zhou C., Liu S., Lin Q.* 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.* 48 (5) : 2144—2154. 2016.
- [16] *Ito Y., Ahmad A., Kewley E., Mason R. J.* Hypoxia-inducible factor regulates expression of surfactant protein in alveolar type II cells in vitro. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 45 (5) : 938—945. 2011.
- [17] *Jiang H., Zhu Y. S., Xu H., Sun Y. Li Q. F.* 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.* 298 (5) : L660—L669. 2010.
- [18] *Lee S. H., Lee S. H., Kim C. H., Yang K. S., Lee E. J., Min K. H., Hur G. Y., Lee S. H., Lee S. Y., Kim J. H., Shin C., Shim J. J., In K. H., Kang K. H., Lee S. Y.* Increased expression of vascular endothelial growth factor and hypoxia inducible factor-1 α in lung tissue of patients with chronic bronchitis. *Clin. Biochem.* 47 (7—8) : 552—559. 2014.
- [19] *Levänen B., Glader P., Dahlén B., Billing B., Qvarfordt I., Palmberg L., Larsson K., Lindén A.* Impact of tobacco smoking on cytokine signaling via interleukin-17A in the peripheral airways. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 11 : 2109—2116. 2016.
- [20] *Li H., Wu Q., Xu L., Li X., Duan J., Zhan J., Feng J., Sun X., Chen H.* Increased oxidative stress and disrupted small intestinal tight junctions in cigarette smoke-exposed rats. *Mol. Med. Rep.* 11 (6) : 4639—4644. 2015.
- [21] *Liu X. H., Kirschenbaum A., Lu M., Yao S., Dosoretz A., Holland J. F., Levine A. C.* Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1alpha stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line. *J. Biol. Chem.* 277 (51) : 50 081—50 086. 2002.
- [22] *Lu D., Li N., Yao X., Zhou L.* Potential inflammatory markers in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 17 (1) : 47—53. 2017.
- [23] *Pappu R., Rutz S., Ouyang W.* Regulation of epithelial immunity by IL-17 family cytokines. *Trends Immunol.* 33 (7) : 343—349. 2012.
- [24] *Polke M., Seiler F., Lepper P. M., Kamyschnikow A., Langer F., Monz D., Herr C., Bals R., Beisswenger C.* Hypoxia and the hypoxia-regulated transcription factor HIF-1 α suppress the host defence of airway epithelial cells. *Innate Immunol.* 23 (4) : 373—380. 2017.
- [25] *Rey S., Semenza G. L.* Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodelling. *Cardiovasc. Res.* 86 (2) : 236—242. 2010.
- [26] *Roh G. S., Yi C. O., Cho Y. J., Jeon B. T., Nizamudtinova I. T., Kim H. J., Kim J. H., Oh Y. M., Huh J. W., Lee J. H., Hwang Y. S., Lee S. D., Lee J. D.* Anti-inflammatory effects of celecoxib in rat lungs with smoke-induced emphysema. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 299 (2) : L184—L191. 2010.
- [27] *Roos A. B., Sethi S., Nikota J., Wrona C. T., Dorrington M. G., Sandén C., Bauer C. M., Shen P., Bowdish D., Stevenson C. S., Erjefält J. S., Stampfli M. R.* IL-17A and the promotion of neutrophilia in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 192 (4) : 428—437. 2015.
- [28] *Sheridan J. A., Zago M., Nair P., Li P. Z., Bourbeau J., Tan W. C., Hamid Q., Eidelman D. H., Benedetti A. L., Baglole C. J.* 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.* 16 : 54. 2015.

[29] *Sin D. D., Pahlavan P. S., Man S. F.* Surfactant protein D: A lung specific biomarker in COPD? *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2 (2) : 65—74. 2008.

[30] *Tao H., Luo W., Pei H., Zhu S., Zhang M., Chen B., He J., Zhang M., Zhou R.* Expression and significance of hypoxia-inducible factor-1 α in patients with chronic obstructive pulmonary disease and smokers with normal lung function. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* 30 (8) : 852—855. 2014.

[31] *Vuichard D., Ganter M. T., Schimmer R. C., Suter D., Booy C., Reyes L., Pasch T., Beck-Schimmer B.* Hypoxia aggravates lipopolysaccharide-induced lung injury. *Clin. Exp. Immunol.* 141 (2) : 248—260. 2005.

[32] *Xu F., Xu Z., Zhang R., Wu Z., Lim J. H., Koga T., Li J. D., Shen H.* Nontypeable Haemophilus influenzae induces COX-2 and PGE2 expression in lung epithelial cells via activation of p38 MAPK and NF- κ B. *Respir. Res.* 9 : 16. 2008.

[33] *Yadava K., Bollyky P., Lawson M. A.* The formation and function of tertiary lymphoid follicles in chronic pulmonary inflammation. *Immunology.* 149 (3) : 262—269. 2016.

[34] *Yanagisawa H., Hashimoto M., Minagawa S., Takasaka N., Ma R., Moermans C., Ito S., Araya J., Budelsky A., Goodsell A., Baron J. L., Nishimura S. L.* Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 312 (1) : L122—L130. 2017.

[35] *Zago M., Rico de Souza A., Hecht E., Rousseau S., Hamid Q., Eidelman D. H., Naglole C. J.* 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.* 226 (2) : 107—116. 2014.

[36] *Zhang M., Fei X., Zhang G. Q., Zhang P. Y., Li F., Bao W. P., Zhang Y. Y., Zhou X.* Role of neutralizing anti-murine interleukin-17A monoclonal antibody on chronic ozone-induced airway inflammation in mice. *Biomed. Pharmacother.* 83 : 247—256. 2016.

[37] *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.* 112 (4) : 585—595. 2004.

Поступила 25 IX 2017
После доработки 30 X 2017