

УДК 616.248:577.25:576.08

DOI: 10.12737/article_5b96073c5711b1.83866044

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА TRPM8 В РЕСПИРАТОРНОМ ТРАКТЕ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ**Д.Е.Наумов, Д.А.Гассан, К.Ф.Килимиченко, Е.Ю.Афанасьева, Е.Г.Шелудько, В.П.Колосов***Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22***РЕЗЮМЕ**

Целью настоящего исследования было проанализировать особенности экспрессии рецептора TRPM8 на уровне белка в индуцированной мокроте и назальном эпителии больных бронхиальной астмой (БА), и оценить их взаимосвязь с базисной терапией и холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. Было обследовано 43 человека, в том числе лица, больные персистирующей БА легкой и средней тяжести и больные хроническим необструктивным бронхитом (контрольная группа). Анализ экспрессии TRPM8 выполняли методом непрямой проточной цитометрии. Кроме этого, больным проводили спирометрическое исследование и бронхопровокационную пробу с 3-минутной гипервентиляцией холодным воздухом. В результате было установлено, что TRPM8 экспрессирован на макрофагах индуцированной мокроты и назальном эпителии, причем экспрессия среди больных БА, не получавших базисной терапии, выражена в большей степени, по сравнению с больными, получавшими лечение или контрольной группой. Кроме этого, установлена взаимосвязь между повышенным уровнем экспрессии TRPM8 на макрофагах и холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. Интерес для дальнейших исследований должно представлять изучение возможности использования TRPM8 как прогностического биомаркера БА на различных этапах развития заболевания.

Ключевые слова: бронхиальная астма, TRPM8, экспрессия, проточная цитометрия, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, базисная терапия.

SUMMARY**PECULIARITIES OF TRPM8 RECEPTOR EXPRESSION IN THE RESPIRATORY TRACT OF ASTHMA PATIENTS****D.E.Naumov, D.A.Gassan, K.F.Kilimichenko, E.Yu.Afanas'eva, E.G.Sheludko, V.P.Koloso***Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

The aim of the study was to analyze the peculiarities of TRPM8 receptor expression at protein level in induced sputum and nasal epithelium of asthma patients, and to evaluate their relationship to maintenance therapy and cold airway hyperresponsiveness. The study enrolled 43 patients, including those with persistent

mild-to-moderate asthma and those with chronic non-obstructive bronchitis (control group). Analysis of TRPM8 expression was performed by indirect flow cytometry. In addition, patients underwent spirometry and a bronchoprovocation test with 3-minute cold air hyperventilation. As a result, we found that TRPM8 was expressed on macrophages of induced sputum and nasal epithelium. Its expression in patients with asthma who did not receive maintenance therapy was more pronounced as compared to the treated patients or the control group. Moreover, the relationship between increased expression of TRPM8 on macrophages and cold airway hyperresponsiveness was established. Further studies should reveal the possibility of TRPM8 usage as a prognostic biomarker of asthma at various stages of the disease development.

Key words: asthma, TRPM8, expression, flow cytometry, cold airway hyperresponsiveness, maintenance therapy.

Катионный канал с транзиторным рецепторным потенциалом меластатинового подсемейства 8 (TRPM8) известен как холодовой рецептор, активный в диапазоне температур 8-28°C [11]. Однако помимо чувствительности к температуре, как и прочие TRP каналы, TRPM8 характеризуется чувствительностью ко многим другим физическим и химическим стимулам, таким как повышенное осмотическое давление [13], pH [3], пылевые частицы [6], сигаретный дым и продукты оксидативного стресса [8], а также тестостерон [1]. Вероятно, что некоторые из активирующих стимулов остаются не описанными до сих пор.

К настоящему времени установлено, что TRPM8 широко экспрессирован в различных отделах респираторного тракта. Так, TRPM8 обнаружен в нейронах тройничного и блуждающего нервов, иннервирующих носовую полость [12] и нижележащие отделы респираторного тракта [16], а также на назальном и бронхиальном эпителии [10, 15], где TRPM8 способен опосредовать секрецию многих интерлейкинов, муцина MUC5AC, и, по всей видимости, металлопротеаз [7, 9, 14].

Экспрессия функциональных TRPM8 каналов была также обнаружена на перитонеальных макрофагах, при этом экспозиция с липополисахаридами увеличивала экспрессию TRPM8. Блокада экспрессии вызывала избыточное высвобождение TNF α под влиянием липополисахаридов, в то время как экспрессия IL-10 снижалась. Напротив, ментол ингибировал индуцированный липополисахаридами провоспалительный ответ (TNF α) и стимулировал высвобождение IL-10.

Кроме этого, ментол повышал фагоцитарную активность макрофагов, тогда как нарушение экспрессии гена ослабляло фагоцитоз [5].

Несмотря на наличие достаточных оснований для изучения возможной патогенетической роли TRPM8, на сегодняшний день имеются лишь единичные работы, демонстрирующие увеличение экспрессии TRPM8 у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких *in vivo*. Например, у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) иммуногистохимически выявлено достоверное увеличение экспрессии TRPM8 в эпителии дыхательных путей, по сравнению со здоровыми лицами [7]. При бронхиальной астме (БА) экспрессия TRPM8 в дыхательных путях также представляется повышенной, однако в единственном исследовании, где это было продемонстрировано, экспрессию изучали в супернатанте индуцированной мокроты методом иммуноферментного анализа, что не вполне информативно [4].

Целью настоящего исследования было изучить экспрессию катионных каналов TRPM8 в назальном эпителии и индуцированной мокроте больных БА и установить ее возможную взаимосвязь с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (ХГДП).

Материалы и методы исследования

Было обследовано 43 человека, в том числе 35 больных персистирующей БА легкой (54%) и средней (46%) степени тяжести и 8 больных хроническим не-обструктивным бронхитом (ХНБ). Средний возраст обследованных составил $39,8 \pm 1,76$ лет. Среди больных БА 57% получали базисную терапию в виде монотерапии препаратами ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС), либо в комбинации с β 2-агонистами длительного действия в дозах, соответствующих тяжести заболевания.

Исследование проводилось согласно «Этическим принципам проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками от 2013 года и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Перед включением в исследование все пациенты подписывали информированное согласие, в соответствии с протоколом, одобренным этическим комитетом ДНЦ ФПД.

Исследование функции внешнего дыхания проводили методом спирографии при форсированном выдохе с анализом кривой поток–объем на аппарате FlowScreen (Erich-Jaeger, Германия). Параметры функции внешнего дыхания, определяемые при спирометрии, включали объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), индекс Тиффно (ИТ), пиковую объемную скорость (ПОС), мгновенную объемную скорость после выдоха 50% ФЖЕЛ (МОС₅₀) и 75% ФЖЕЛ (МОС₇₅), а также параметр МОС₅₀₋₇₅, дающий интегральную оценку проходимости средних и мелких бронхов. Спирометрическое исследование вы-

полняли исходно, а также после проведения бронхопровокационной пробы с 3-минутной изокапнической гипервентиляцией холодным воздухом. Гипервентиляцию воздушной смесью с температурой -20°C , содержащей 5% CO₂, проводили на уровне 60% от должной максимальной вентиляции. На основании полученных данных о проходимости дыхательных путей вычисляли процентное отношение изменения (Δ , %) для параметров ФЖЕЛ, ОФВ₁, МОС₅₀ и МОС₇₅, а также ИТ. При снижении ОФВ₁ на 10% и более или снижении МОС₅₀ на 25% и более по отношению к исходному диагностировали ХГДП.

Экспрессию TRPM8 определяли методом непрямой проточной цитометрии на аппарате FACS Canto II (BD, США) в образцах индуцированной мокроты и назального эпителия, полученного при браш-биопсии. Фенотипирование лейкоцитов индуцированной мокроты проводили с использованием антител к CD45, CD14, CD66b, CDw125. Жизнеспособные клетки гейтировали после окраски образца пропидия йодидом. Идентификацию назального эпителия осуществляли путем внутриклеточного окрашивания антителами к цитокератину 19. Жизнеспособность клеток эпителия определяли с помощью коммерческого набора LIVE/DEAD™ Fixable Far Red Dead Cell Stain Kit (Life Technologies, США). Для маркирования TRPM8 использовали неконъюгированные поликлональные антитела к аминокислотным остаткам 917-929 (внеклеточная часть, область поры канала) производства Alomone Labs (Израиль), и вторичные антитела, меченные Alexa Fluor 488 (Abcam, Великобритания). Экспрессию выражали как медианную интенсивность флуоресценции (MFI) полностью окрашенного образца, нормализованную на значение MFI контрольного образца, окрашенного только вторичными антителами. Также экспрессию традиционно выражали как процент положительно окрашенных клеток (%Pos).

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2011) с использованием параметрических и непараметрических методов. Анализ количественных переменных с нормальным распределением проводили методом ANOVA (при множественных сравнениях) и t-Стьюдента. В случае распределения, отличного от нормального, использовали ранговый дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса (для множественных сравнений) и U критерий Манна-Уитни. Корреляционный анализ проводили с использованием непараметрического R критерия Спирмена. Для ассоциативного анализа номинальных переменных использовали критерий χ^2 Пирсона или точный критерий Фишера. Данные представлены в виде $M \pm m$ для нормально распределенных переменных и Me (Q1; Q3) – для переменных с распределением, отличным от нормального.

Результаты исследования и их обсуждение

В образцах индуцированной мокроты экспрессия TRPM8 была обнаружена только на макрофагах, что согласуется с прежде сделанными наблюдениями. При

этом на моноцитах крови экспрессия рецептора отсутствовала, что говорит о том, что она, вероятно, активируется на стадии тканевой дифференцировки клеток. Экспрессия TRPM8 на клетках назального эпителия также хорошо определялась, хотя была менее выраженной, по сравнению с макрофагами индуцированной мокроты. Измеренные уровни экспрессии на макрофагах и назальном эпителии не демонстрировали зависимости от пола или возраста обследованных лиц.

Интересно, что экспрессия TRPM8 на макрофагах и эпителии была заметно взаимосвязана в общей выборке обследованных, что может говорить об общих механизмах, либо факторах, участвующих в ее регуляции в респираторном тракте, независимо от типа экспрессирующих клеток. Так, корреляция (R) между параметрами нормализованной MFI (nMFI) для макрофагов и эпителия составила 0,41 (p=0,04), а между про-

центными показателями %Pos – 0,53 (p=0,008). Полученные оценки nMFI и %Pos также существенно коррелировали между собой: R=0,75 (p<0,001) – в равной степени для макрофагов и эпителия.

Еще одним интересным фактом стало то, что как в макрофагах, так и на эпителии экспрессия TRPM8 была увеличена у больных БА, но только среди тех, кто не получал базисной терапии. В противном случае уровень экспрессии рецептора практически не отличался от больных ХНБ. При этом, какая-либо взаимосвязь между уровнями экспрессии и функцией внешнего дыхания, а также реакцией на короткодействующий β2-агонист фенотерол отсутствовала. Можно видеть, что диапазон значений экспрессии в эпителии приблизительно в два раза уже, чем в макрофагах, и различия между группами, несмотря на наличие определенных тенденций, незначимы (табл. 1).

Таблица 1

Показатели экспрессии TRPM8 на макрофагах индуцированной мокроты и назальном эпителии в обследованных подгруппах

Клетки (показатель)	Больные БА без базисной терапии	Больные БА, получавшие базисную терапию	Больные ХНБ	p
Макрофаги (nMFI)	2,1 (1,95; 2,79)	1,3 (1,10; 1,91)	1,2 (1,06; 1,35)	p ₁ =0,001 p ₂ =0,001 p ₃ =0,80
Макрофаги (%Pos)	38,5 (13,1; 51,1)	11,6 (2,55; 20,1)	8,0 (3,20; 9,20)	p ₁ =0,01 p ₂ =0,03 p ₃ =0,52
Эпителий (nMFI)	1,3 (1,14; 1,40)	1,1 (1,10; 1,21)	1,1 (1,02; 1,24)	p ₁ =0,10 p ₂ =0,06 p ₃ =0,75
Эпителий (%Pos)	5,0 (2,45; 7,90)	3,7 (2,20; 4,40)	2,2 (1,90; 2,80)	p ₁ =0,12 p ₂ =0,23 p ₃ =0,14

Примечание: p₁ – значимость различий между больными БА, не получавшими терапию, и больными ХНБ; p₂ – значимость различий между больными БА, получавшими и не получавшими базисную терапию; p₃ – значимость различий между больными БА, получавшими терапию, и больными ХНБ.

По всей видимости, ИГКС напрямую или опосредованно, способны влиять на экспрессию TRPM8. Данный вопрос прежде не изучался, однако известно, что регулировать экспрессию TRPM8 способны андрогены и, прежде всего тестостерон, который оказывает свой эффект через элементы отклика на андрогены (ARE), расположенные в 5' фланкирующей области гена TRPM8 [2].

Кроме того, нами была обнаружена взаимосвязь между ХГДП и экспрессией TRPM8 в общей подгруппе больных БА. Корреляция между параметром %Pos на макрофагах и ΔОФВ₁ в ответ на бронхопровокационную пробу составила -0,43 (p=0,02), между %Pos для эпителия и ΔОФВ₁ -0,43 (p=0,08). При сравнении уровня экспрессии в зависимости от наличия ХГДП установлено, что экспрессия на макрофагах, выраженная в %Pos, значимо выше среди больных с ХГДП. Для прочих параметров различия были незначимы (табл. 2). Достоверной зависимости наличия и степени ХГДП от статуса базисной терапии не отмечалось.

Несмотря на найденные ассоциации, нельзя утверждать, что увеличенная экспрессия является причиной гиперреактивности, поскольку уровни экспрессии анализировали на макрофагах и назальном эпителии – клетках, не принимающих непосредственного участия в развитии бронхоконстрикторных реакций. Однако, учитывая найденную корреляцию между экспрессией TRPM8 на двух различных типах клеток, нельзя исключать, что экспрессия рецептора также может быть увеличена в нервных окончаниях, а кроме того, ингаляция холодного воздуха может иметь и отсроченные последствия, обусловленные, прежде всего, TRPM8 экстранейрональной локализации. Изучение таких последствий не предусматривалось в рамках задаваемого исследования. Наконец, возможен вариант, при котором взаимосвязь холодовой гиперреактивности и экспрессии TRPM8 обусловлена неизвестным третьим причинным фактором, одновременно потенцирующим холодовую гиперреактивность, и вызывающим апрегуляцию TRPM8.

Таблица 2

Показатели экспрессии TRPM8 на макрофагах индуцированной мокроты и назальном эпителии в зависимости от наличия холодовой гиперреактивности дыхательных путей

Клетки (показатель)	Больные БА с ХГДП	Больные БА без ХГДП	p
Макрофаги (nMFI)	1,9 (1,62; 2,46)	1,5 (1,31; 2,09)	0,29
Макрофаги (%Pos)	21,6 (17,1; 40,7)	11,6 (7,45; 16,55)	0,03
Эпителий (nMFI)	1,2 (1,14; 1,25)	1,1 (1,00; 1,34)	0,55
Эпителий (%Pos)	4,2 (3,30; 5,40)	2,8 (1,10; 4,30)	0,20

Подводя итог, можно сказать, что анализ экспрессии TRPM8 в клетках индуцированной мокроты и назального эпителия у больных БА методом непрямой проточной цитометрии был выполнен впервые. Обнаруженная экспрессия рецептора на макрофагах и эпителии была взаимосвязана, а уровень ее увеличен среди больных БА, не получавших базисной терапии, либо имевших ХГДП по данным бронхопровокационной пробы. Важность данного наблюдения подтверждается результатами прежде проведенных исследований, которые свидетельствуют о существенной роли TRPM8 в индукции процессов воспаления, гиперсекреции и ремоделирования дыхательных путей при БА и ХОБЛ, даже при отсутствии действия специфических температурных или иных экзогенных раздражителей. Дальнейшие исследования должны быть направлены на уточнение функциональной роли TRPM8, экспрессированных на макрофагах дыхательных путей. Несмотря на то, что на перитонеальных макрофагах активация TRPM8 в целом опосредовала противовоспалительный эффект, данный факт должен быть верифицирован на макрофагах респираторного тракта. Другой задачей может стать поиск сигнальных механизмов и факторов транскрипции, вызывающих увеличение экспрессии TRPM8 при хронической обструктивной патологии легких, а также верификация эффектов глюкокортикоидов на экспрессию и чувствительность TRPM8 *in vitro*.

Большой интерес также представляет оценка диагностической и прогностической ценности TRPM8 как молекулярного маркера для раннего выявления или прогнозирования риска формирования БА. В отдельном наблюдаемом нами клиническом случае экспрессия TRPM8 на макрофагах была увеличена до уровней, типичных для БА, в то время как, несмотря на аллергическую сенсibilизацию, отсутствовали убедительные клиничко-функциональные данные, подтверждающие диагноз заболевания. Однако в течение ближайшего времени на фоне проведения бронхопровокационных проб у больной стала нарастать бронхиальная обструкция, возросло количество эозинофилов в крови, и диагноз БА был подтвержден. В другом аналогичном случае экспрессия TRPM8 была также увеличена уже на самой ранней стадии формирования патологического процесса, как на макрофагах, так и в назальном эпителии. При этом типичная симптоматика, аллергическая сенсibilизация и какой-либо предшествующий анамнез заболевания, позволяющие

однозначно заподозрить или диагностировать БА, практически отсутствовали. В дальнейшем, при тщательном функциональном обследовании дыхательной системы с проведением бронхопровокационных тестов и проб с бронхолитиками диагноз БА был верифицирован.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №16-34-60189 мол_а_дк.

ЛИТЕРАТУРА

1. Asuthkar S., Demirkhanyan L., Sun X., Elustondo P.A., Krishnan V., Baskaran P., Velpula K.K., Thyagarajan B., Pavlov E.V., Zakharian E. The TRPM8 protein is a testosterone receptor: II. Functional evidence for an ionotropic effect of testosterone on TRPM8 // *J. Biol. Chem.* 2015. Vol.290, №5. P.2670–2688.
2. Asuthkar S., Velpula K.K., Elustondo P.A., Demirkhanyan L., Zakharian E. TRPM8 channel as a novel molecular target in androgen-regulated prostate cancer cells // *Oncotarget.* 2015. Vol.6, №19. P.17221–17236.
3. Behrendt H.J., Germann T., Gillen C., Hatt H., Jostock R.. Characterization of the mouse cold-menthol receptor TRPM8 and vanilloid receptor type-1 VR1 using a fluorometric imaging plate reader (FLIPR) assay // *Br. J. Pharmacol.* 2004. Vol.141, №4. P.737–745.
4. Cheon D.Y., Kim J.H., Jang Y.S., Hwang Y.I., Park S., Kim D.G., Jang S.H., Jung K.S. The activation of transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8) receptors of bronchial epithelial cells induces airway inflammation in bronchial asthma // *Eur. Respir. J.* 2016. Vol.48. PA3997.
5. Khalil M., Babes A., Lakra R., Försch S., Reeh P.W., Wirtz S., Becker C., Neurath M.F., Engel M.A. Transient receptor potential melastatin 8 ion channel in macrophages modulates colitis through a balance-shift in TNF-alpha and interleukin-10 production // *Mucosal Immunol.* 2016. Vol.9, №6. P.1500–1513.
6. Lamb J.G., Romero E.G., Lu Z., Marcus S.K., Peterson H.C., Veranth J.M., Deering-Rice C.E., Reilly C.A. Activation of Human Transient Receptor Potential Melastatin-8 (TRPM8) by Calcium-Rich Particulate Materials and Effects on Human Lung Cells // *Mol. Pharmacol.* 2017. Vol.92, №6. P.653–664.
7. Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism // *J. Allergy Clin. Im-*

munol. 2011. Vol.128, №3. P.626–634.

8. Lin A.H., Liu M.H., Ko H.B., Perng D.W., Lee T.S., Kou Y.R. Inflammatory Effects of Menthol vs. Non-menthol Cigarette Smoke Extract on Human Lung Epithelial Cells: A Double-Hit on TRPM8 by Reactive Oxygen Species and Menthol // *Front. Physiol.* 2017. Vol.27, №8. P.263.

9. Liu H., Liu Q., Hua L., Pan J. Inhibition of transient receptor potential melastatin 8 alleviates airway inflammation and remodeling in a murine model of asthma with cold air stimulus // *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)* 2018; Vol.50, №5. P.499–506.

10. Liu S.C., Lu H.H., Fan H.C., Wang H.W., Chen H.K., Lee F.P., Yu C.J., Chu Y.H. The identification of the TRPM8 channel on primary culture of human nasal epithelial cells and its response to cooling // *Medicine (Baltimore)*. 2017. Vol.96, №31. e7640.

11. Nilius B., Owsianik G., Voets T., Peters J.A. Transient receptor potential cation channels in disease // *Physiol. Rev.* 2007. Vol.87, №1. P.165–217.

12. Plevkova J., Kollarik M., Poliacek I., Brozmanova M., Surdenikova L., Tatar M., Mori N., Canning B.J. The role of trigeminal nasal TRPM8-expressing afferent neurons in the antitussive effects of menthol // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2013. Vol.115, №2. P.268–274.

13. Quallo T., Vastani N., Horridge E., Gentry C., Parra A., Moss S., Viana F., Belmonte C., Andersson D.A., Bevan S. TRPM8 is a neuronal osmosensor that regulates eye blinking in mice // *Nat. Commun.* 2015. Vol.22, №6. P.7150.

14. Sabnis A.S., Reilly C.A., Veranth J.M., Yost G.S. Increased transcription of cytokine genes in human lung epithelial cells through activation of a TRPM8 variant by cold temperatures // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2008. Vol.295, №1. P.L194–200.

15. Sabnis A.S., Shadid M., Yost G.S., Reilly C.A. Human lung epithelial cells express a functional cold-sensing TRPM8 variant // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008. Vol.39, №4. P.466–474.

16. Xing H., Ling J.X., Chen M., Johnson R.D., Tomimaga M., Wang C.Y., Gu J. TRPM8 mechanism of autonomic nerve response to cold in respiratory airway // *Mol. Pain.* 2008. №4. P.22.

REFERENCES

1. Asuthkar S., Demirkhanyan L., Sun X., Elustondo P.A., Krishnan V., Baskaran P., Velpula K.K., Thyagarajan B., Pavlov E.V., Zakharian E. The TRPM8 protein is a testosterone receptor: II. Functional evidence for an ionotropic effect of testosterone on TRPM8. *J. Biol. Chem.* 2015; 290(5):2670–2688.

2. Asuthkar S., Velpula K.K., Elustondo P.A., Demirkhanyan L., Zakharian E. TRPM8 channel as a novel molecular target in androgen-regulated prostate cancer cells. *Oncotarget* 2015; 6(19):17221–17236.

3. Behrendt H.J., Germann T., Gillen C., Hatt H., Jostock R.. Characterization of the mouse cold-menthol receptor TRPM8 and vanilloid receptor type-1 VR1 using a fluorometric imaging plate reader (FLIPR) assay. *Br. J.*

Pharmacol. 2004; 141(4):737–745.

4. Cheon D.Y., Kim J.H., Jang Y.S., Hwang Y.I., Park S., Kim D.G., Jang S.H., Jung K.S. The activation of transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8) receptors of bronchial epithelial cells induces airway inflammation in bronchial asthma. *Eur. Respir. J.* 2016; 48:PA3997.

5. Khalil M., Babes A., Lakra R., Försch S., Reeh P.W., Wirtz S., Becker C., Neurath M.F., Engel M.A. Transient receptor potential melastatin 8 ion channel in macrophages modulates colitis through a balance-shift in TNF-alpha and interleukin-10 production. *Mucosal Immunol.* 2016; 9(6):1500–1513.

6. Lamb J.G., Romero E.G., Lu Z., Marcus S.K., Peterson H.C., Veranth J.M., Deering-Rice C.E., Reilly C.A. Activation of Human Transient Receptor Potential Melastatin-8 (TRPM8) by Calcium-Rich Particulate Materials and Effects on Human Lung Cells. *Mol Pharmacol.* 2017; 92(6):653–664.

7. Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells in vitro through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128(3):626–634.

8. Lin A.H., Liu M.H., Ko H.B., Perng D.W., Lee T.S., Kou Y.R. Inflammatory Effects of Menthol vs. Non-menthol Cigarette Smoke Extract on Human Lung Epithelial Cells: A Double-Hit on TRPM8 by Reactive Oxygen Species and Menthol. *Front. Physiol.* 2017; 27(8):263.

9. Liu H., Liu Q., Hua L., Pan J. Inhibition of transient receptor potential melastatin 8 alleviates airway inflammation and remodeling in a murine model of asthma with cold air stimulus. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)* 2018; 50(5):499–506.

10. Liu S.C., Lu H.H., Fan H.C., Wang H.W., Chen H.K., Lee F.P., Yu C.J., Chu Y.H. The identification of the TRPM8 channel on primary culture of human nasal epithelial cells and its response to cooling. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96(31):e7640.

11. Nilius B., Owsianik G., Voets T., Peters J.A. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol. Rev.* 2007; 87(1):165–217.

12. Plevkova J., Kollarik M., Poliacek I., Brozmanova M., Surdenikova L., Tatar M., Mori N., Canning B.J. The role of trigeminal nasal TRPM8-expressing afferent neurons in the antitussive effects of menthol. *J. Appl. Physiol.* (1985) 2013; 115(2):268–274.

13. Quallo T., Vastani N., Horridge E., Gentry C., Parra A., Moss S., Viana F., Belmonte C., Andersson D.A., Bevan S. TRPM8 is a neuronal osmosensor that regulates eye blinking in mice. *Nat. Commun.* 2015; 22(6):7150.

14. Sabnis A.S., Reilly C.A., Veranth J.M., Yost G.S. Increased transcription of cytokine genes in human lung epithelial cells through activation of a TRPM8 variant by cold temperatures. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2008; 295(1):L194–200.

15. Sabnis A.S., Shadid M., Yost G.S., Reilly C.A. Human lung epithelial cells express a functional cold-sensing TRPM8 variant. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2008;

39(4):466–474.

16. Xing H., Ling J.X., Chen M., Johnson R.D., Tomi-
naga M., Wang C.Y., Gu J. TRPM8 mechanism of auto-

nomic nerve response to cold in respiratory airway. *Mol.
Pain* 2008; 4:22.

Поступила 18.06.2018

Контактная информация

*Денис Евгеньевич Наумов,
кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории
профилактики неспецифических заболеваний легких,
Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.*

E-mail: denn1985@bk.ru

Correspondence should be addressed to

*Denis E. Naumov,
MD, PhD, Senior Staff Scientist,
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: denn1985@bk.ru