

Взаимодействие фактора некроза опухоли-альфа и интерферона-гамма с фагоцитарными клетками бронхов у больных неаллергической бронхиальной астмой

А.Б. Пирогов, А.Г. Приходько, Н.А. Пирогова, Ю.М. Перельман

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

Резюме

Вклад иммуnoreгуляторных цитокинов в формирование холодовой гиперреактивности дыхательных путей у больных бронхиальной астмой (БА) важен для понимания подходов к терапии. Цель исследования – изучить взаимодействие фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α) и интерферона-гамма (IFN- γ) с фагоцитами бронхов у больных неаллергической БА в зависимости от реакции дыхательных путей на холодный воздух. **Материал и методы.** У 41 больного БА выполняли стандартный мониторинг клинических симптомов заболевания с оценкой уровня контроля над БА по вопроснику Asthma Control Test (ACT), базовую спирометрию, сбор индуцируемой и спонтанно продуцируемой мокроты, а также конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ), проведение бронхопровокационной пробы изокапнической гипервентиляции холодным (-20°C) воздухом (ИГХВ), анализировали содержание TNF- α , IFN- γ в КВВ и клеточный состав мокроты. **Результаты.** У 15 больных выявлена холодовая гиперреактивность дыхательных путей (группа 1), у 26 человек (группа 2) реакция бронхов на ИГХВ отсутствовала. По уровню контроля над астмой ($17,1 \pm 0,89$ и $18,7 \pm 0,63$ баллов ACT; $p > 0,05$) и показателям вентиляционной функции легких (ОФВ₁, $91,2 \pm 4,07$ и $98,8 \pm 2,61$ % соответственно; $p > 0,05$) не было межгрупповых различий. В ответ на ИГХВ в мокроте больных группы 1 значительно увеличивалось количество нейтрофилов, снижалось число макрофагов, структурно целостных эпителиальных клеток, пропорционально чему в КВВ достоверно увеличивался уровень IFN- γ , содержание TNF- α не изменялось. **Заключение.** Реакция на ИГХВ у больных неаллергической БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей характеризуется повышением в конденсате выдыхаемого воздуха уровня IFN- γ при отсутствии достоверных изменений содержания TNF- α . Увеличение доли нейтрофилов в мокроте под влиянием холодного стимула сопровождается уменьшением количества макрофагов и структурно целостных эпителиальных клеток в результате воспалительного повреждения, деструкции и цитолиза.

Ключевые слова: бронхиальная астма неаллергического фенотипа, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, фактор некроза опухоли-альфа, интерферон-гамма, M1-макрофаги, нейтрофилы бронхов, Th1-иммунный ответ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Перельман Ю.М., e-mail: jperelman@mail.ru

Для цитирования: Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Перельман Ю.М. Взаимодействие фактора некроза опухоли-альфа и интерферона-гамма с фагоцитарными клетками бронхов у больных неаллергической бронхиальной астмой. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(5):129–137. doi: 10.18699/SSMJ20240515

Interaction of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma with bronchial phagocytic cells in non-allergic bronchial asthma patients

A.B. Pirogov, A.G. Prikhodko, N.A. Pirogova, J.M. Perelman

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration
675000, Blagoveshchensk, Kalinina st., 22

Abstract

The contribution of immunoregulatory cytokines to the formation of cold airway hyperresponsiveness in asthma patients is important for understanding approaches to therapy. Aim of the study was to investigate the interaction of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interferon-gamma (IFN- γ) with bronchial phagocytes in non-allergic asthma patients depending on the airway response to cold air. **Material and methods.** In 41 patients with asthma, standard monitoring of clinical symptoms of the disease was performed with assessment of the level of asthma control using the Asthma Control Test (ACT) questionnaire, basic spirometry, collection of induced and spontaneously produced sputum, as well as exhaled breath condensate (EBC), and a bronchoprovocation test of isocapnic hyperventilation with cold (-20°C) air (IHCA), the content of TNF- α , IFN- γ in EBC and cellular composition of sputum. **Results.** Cold airway hyperresponsiveness was revealed in 15 patients (group 1), and in 26 patients (group 2) bronchial reaction to IHCA was absent. There were no intergroup differences in the level of asthma control (17.1 ± 0.89 and 18.7 ± 0.63 ACT points, respectively; $p > 0.05$) and indices of lung function (FEV_1 91.2 ± 4.07 and 98.8 ± 2.61 %, respectively; $p > 0.05$). In response to IHCA in sputum of group 1 patients, the number of neutrophils significantly increased, the number of macrophages, structurally integral epithelial cells decreased, proportionally to this, the level of IFN- γ increased significantly in EBC, TNF- α content did not change. **Conclusions.** The response to isocapnic hyperventilation with cold air in non-allergic asthma patients with cold airway hyperresponsiveness is characterized by an increase in the level of IFN- γ in the exhaled breath condensate with no significant changes in the content of TNF- α . The increase in the proportion of neutrophils in sputum under the influence of cold stimulus is accompanied by a decrease in the number of macrophages and structurally integral epithelial cells because of inflammatory damage, destruction and cytolysis.

Key words: asthma of non-allergic phenotype, cold airway hyperresponsiveness, tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma, M1 macrophages, bronchial neutrophils, Th1 immune response.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Perelman J.M., e-mail: jperelman@mail.ru

Citation: Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Perelman J.M. Interaction of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma with bronchial phagocytic cells in non-allergic bronchial asthma patients. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(5):129–137. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240515

Введение

Фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α) и интерферон-гамма (IFN- γ) являются ключевыми цитокинами, стимулирующими поляризацию макрофагов в классически активированный фенотип M1 [1–6], а также индуцирующими респираторный взрыв и фагоцитоз в нейтрофилах. Активация последних сопровождается усилением синтеза нейтрофилокинов (GM-CSF, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8), участвующих в кооперативном взаимодействии клеток фагоцитарной системы [7].

В настоящее время внимание исследователей сосредоточено на появлении нейтрофилии у больных бронхиальной астмой (БА), формирующей смешанный паттерн бронхиального воспаления [8–10], который зачастую ассоциируется с неаллергическим фенотипом заболевания у пациентов с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (ХГДП) [11]. Астма у пациентов с ХГДП, как правило, отличается тяжестью клинических симптомов в зимнее время года, отсутствием контроля над болезнью и резистентностью к кортикостероидной терапии [11], а на клеточно-молекулярном уровне сопровождается увеличением содержания провоспалительных цитокинов, инициирующих каскад воспалительных реакций и активацию интерстициальных макрофагов бронхов по классическому M1-фенотипу [4, 12, 13].

Как известно, M1-поляризация макрофагов координируется влиянием провоспалительных стимулов. Так, при взаимодействии IFN- γ с соответствующим рецептором IFN- γ R в макрофагах активируются IRF/STAT-зависимые канонические пути передачи сигналов [5], при этом прямая активация эффекторного гена посредством STAT1 (сигналинг IFN- γ /JAK/STAT1) рассматривается лишь одним из механизмов IFN- γ -опосредованной дифференцировки фагоцитов [1]. Помимо стимуляции IRF/STAT, поляризация макрофагов в состояние M1 детерминируется активацией фактора транскрипции NF- κ B, связанной с воздействием на Toll-подобные рецепторы (TLR) TNF- α или распознаванием TLR микробных продуктов. Это приводит к экспрессии генов провоспалительных цитокинов и хемокинов, в том числе самого TNF- α , а также активации данным цитокином сигнальных путей MAPK и AP-1 [2, 5, 6, 14]. В иммунном ответе астматиков M1-макрофаги эффективно активируют клетки Th1, секретируя обширное количество различных про- и противовоспалительных цитокинов, а также оксид азота (NO, за счет стимуляции активности iNOS) и активные формы кислорода (ROS) [3–5, 12, 13].

Настоящее исследование предпринято ввиду очевидной причастности к патогенезу неаллергической формы БА Th1-зависимых иммунных

реакций, в инициации которых активно участвуют макрофаги классического функционального фенотипа. Последние стимулируют иммунные ответы Th1, а также продукцию ROS, воспалительных медиаторов и токсических метаболитов фагоцитирующими гранулоцитами (нейтрофилами), которые, как и макрофаги M1, базируются на механизмах респираторного взрыва и контролируются провоспалительными цитокинами.

Цель исследования заключалась в определении взаимодействия иммунорегуляторных TNF- α и IFN- γ с макрофагами и нейтрофилами воспалительного инфильтрата бронхов у пациентов с БА и ХГДП.

Материал и методы

Обсервационное исследование проводилось с участием 41 пациента обоего пола с персистирующей БА легкой и средней степени тяжести, неаллергического фенотипа [15]. Критериями включения определены возраст 18–60 лет, установленный диагноз БА, объем форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁) > 75 % должной величины, базисная терапия в соответствии со степенью тяжести заболевания [15], подписанное информированное согласие на добровольное участие. Критерии не включения в исследование: наличие холодовой аллергии при накожной пробе с кубиком льда (методика Дугласа), отек Квинке и острые вирусные инфекции в течение предыдущих 2 мес., тяжелое течение БА, прием системных глюкокортикостероидов, клинически значимые заболевания других органов и систем, отсутствие заинтересованности в исследовании, злоупотребление алкоголем и другими токсическими веществами, беременность.

Работа выполнена в соответствии с этическими принципами проведения научных медицинских исследований с участием человека Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.) и разрешением Комитета по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (протокол № 149 от 19.03.2024).

План обследования пациентов включал: 1-й день – стандартный мониторинг клинических симптомов заболевания с оценкой уровня контроля над БА по вопроснику Asthma Control Test (ACT, Quality Metric Inc., 2002), базовую спирометрию на спирографе Easy on-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария) с анализом параметров поток–объем форсированного выдоха до и после бронходилатационной пробы с β_2 -агонистом короткого действия (сальбутамол, 400 мкг), сбор индуцируемой мокроты; 2-й день – сбор спонтанно продуцируемой мокроты, конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ), проведение бронхопровокационной пробы изокапнической

гипервентиляции холодным воздухом (ИГХВ, 3 мин, –20 °С) [16]. Изменение ОФВ₁ после пробы ИГХВ регистрировали на первой и пятой минутах восстановительного периода (Δ ОФВ_{1ИГХВ}, %). Синдром холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП) считали верифицированным при снижении ОФВ₁ на 10 % и более от исходной величины [16]. Процедура забора биологического материала была стандартизована по времени и последовательности выполнения. Все пациенты с бронхоконстрикцией в ответ на пробу ИГХВ и солевые растворы при сборе мокроты оставались под наблюдением медицинского персонала не менее 2–4 ч и могли покинуть лабораторию при условии восстановления ОФВ₁ до значений > 90 % от исходного с рекомендациями необходимых действий в случае появления рецидива бронхоспазма в последующие 24 ч после тестирования.

Сбор индуцированной мокроты осуществляли под спирометрическим контролем, оценивая ОФВ₁ по завершении каждой ингаляции 3%-, 4%- и 5%-ми растворами NaCl [17]. Спонтанно продуцируемую мокроту пациенты откашливали в стерильный контейнер (25 мл). Перед забором мокроты во всех случаях рот ополаскивали дистиллированной водой. Изучение образцов полученной от больного мокроты проводили не позднее 1,5–2 ч после ее сбора. Перед анализом мазки мокроты подготавливали стандартным образом, высушивали (5–10 мин, 37 °С) в термостате ТМ-2, фиксировали в парах 40%-го раствора формалина (10 мин), окрашивали в водном красителе Романовского – Гимзы (4–5 %, рН 6,8). Используя светооптический иммерсионный микроскоп, оценивали клеточный состав с подсчетом не менее 400 клеток в полях зрения (центральная и периферические области), число клеточных элементов выражали в процентах от общего их содержания.

КВВ собирали с помощью аппарата ECoScreen II (VIASUS Healthcare GmbH, Германия) до и после пробы ИГХВ в течение 20 мин при спокойном дыхании ртом [18]. Перед исследованием ротовую полость ополаскивали дистиллированной водой. Полученный биологический материал аликвотировали в полипропиленовые пробирки объемом 1,5 мл, замораживали (–80 °С). Перед анализом образцы КВВ размораживали, концентрировали (в 15 раз), применяя вакуумный концентратор Savant SpeedVac SPD120P2 (Thermo Fisher Scientific, США). Определяли содержание TNF- α и IFN- γ в КВВ, проводя мультиплексный анализ на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (BD, США) с наборами LEGENDplex HU Essential Immune Response Panel (BioLegend, США) по протоколу производителя.

Для обработки полученного материала использовали программу «Автоматизированная

система диспансеризации» [19]. Проверку на соответствие количественных значений признака закону нормального распределения проводили по критериям Колмогорова – Смирнова, Пирсона – Мизеса. Для сравнения рядов при нормальном распределении применяли непарный и парный критерий t Стьюдента (при условии гомогенности дисперсий групп сравнения по критерию Фишера); при распределении параметров, отличных от нормального, использовали критерий Манна – Уитни (U) и парный критерий Уилкоксона (W). Количественные параметры представлены как среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение ($M \pm \sigma$) или как медиана и межквартильный размах ($Me [Q1; Q3]$). Связь между двумя случайными величинами оценивали путем проведения корреляционного анализа по Спирмену. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты

По совокупности статистических критериев анализируемая выборка больных по основным клиничко-физиологическим параметрам и показателям базовой спирометрии соответствовала нормальному распределению. Численные значения параметров приведены в таблице. В зависимости от изменений индивидуальных значений ОФВ₁ после бронхопровокационной пробы ИГХВ выборка была разделена на две группы. В группу 1 вошли 15 больных с ХГДП, у которых провокация сопровождалась бронхоконстрикцией с падением ОФВ₁ более чем на 10 % от начально зарегистрированной величины (таблица), в группу 2 – 26 человек без ХГДП, у которых измене-

ние ОФВ₁ после ИГХВ не превышало предельно допустимой границы установленной нормы [16]. Сопоставление базовых клиничко-функциональных параметров не выявило значимых межгрупповых различий, реакция дыхательных путей в ответ на ингаляцию сальбутамола (Δ ОФВ_{1 β}), солевые растворы (Δ ОФВ_{1 NaCl}) при сборе мокроты также существенно не отличалась (см. таблицу).

Анализируя мокроту больных группы 1 в ответ на пробу ИГХВ, мы наблюдали достоверное увеличение доли нейтрофилов при отсутствии изменений в количестве эозинофилов, достоверное уменьшение содержания макрофагов и снижение числа структурно целостных эпителиальных клеток как результат воспалительного повреждения, деструкции и цитолиза паренхимы (рис. 1, 2). Следует подчеркнуть, что сдвиг в клеточном составе мокроты с активацией нейтрофильного сегмента происходил на фоне уже существовавшего смешанного паттерна воспаления в бронхах больных с ХГДП.

В свою очередь, прирост количества нейтрофилов в мокроте больных группы 1 после пробы ИГХВ был сопряжен с достоверно большей концентрацией IFN- γ в КВВ по сравнению с группой 2 (рис. 3). Уровень TNF- α после пробы ИГХВ у больных группы 1 претерпевал меньшие изменения, примерно соответствуя базовому уровню, у больных группы 2 бронхопровокация вызывала значимое падение его концентрации в КВВ в сравнении с исходной. В группе 2 также регистрировалась тенденция к увеличению процентного содержания нейтрофилов после ИГХВ, меняя характер клеточного воспаления; количество макрофагов, как и в группе 1, достоверно снижалось (см. рис. 2). Несмотря на существующие

Антропометрические и клиничко-физиологические параметры, изменение ОФВ₁ у больных БА

Anthropometric, clinical and physiologic parameters, change in forced expiratory volume in patients with asthma

Показатель	Общая группа	Группа 1	Группа 2	p
Возраст, лет	41,5 $\pm$ 12,27	39,8 $\pm$ 15,56	41,9 $\pm$ 12,30	0,66
Рост, см	170,9 $\pm$ 10,64	170,2 $\pm$ 13,31	171,1 $\pm$ 11,10	0,72
Масса тела, кг	78,2 $\pm$ 15,07	75,0 $\pm$ 15,33	79,9 $\pm$ 15,40	0,37
АСТ, баллы	17,7 $\pm$ 2,65	17,1 $\pm$ 3,33	18,7 $\pm$ 3,21	0,38
ЖЕЛ, % долж.	103,7 $\pm$ 13,77	101,1 $\pm$ 12,27	108,2 $\pm$ 10,90	0,08
ОФВ _{1β} , % долж.	94,1 $\pm$ 15,91	91,2 $\pm$ 15,22	98,8 $\pm$ 13,33	0,11
ОФВ ₁ / ЖЕЛ, %	74,5 $\pm$ 7,92	74,6 $\pm$ 9,24	75,6 $\pm$ 7,70	0,71
СОС ₂₅₋₇₅ , % долж.	69,8 $\pm$ 25,89	65,2 $\pm$ 28,98	75,2 $\pm$ 27,12	0,70
Δ ОФВ _{1β} , %	7,0 [3,0; 10,5]	9,0 [4,0; 12,5]	7,0 [4,0; 10,0]	0,82
Δ ОФВ _{1ИГХВ} , %	-8 [-14,3; -4,0]	-13,6 [-18,0; -11,0]	-3,7 [-7,0; -0,5]	0,002
Δ ОФВ _{1NaCl} , %	0,23 [-1,8; 2,8]	-0,52 [-3,4; 0,3]	0,62 [-1,0; 4,0]	0,46

Примечание. ЖЕЛ – жизненная емкость легких, СОС₂₅₋₇₅ – средняя объемная скорость выдыхаемого воздуха на уровне 25–75 % форсированной ЖЕЛ.

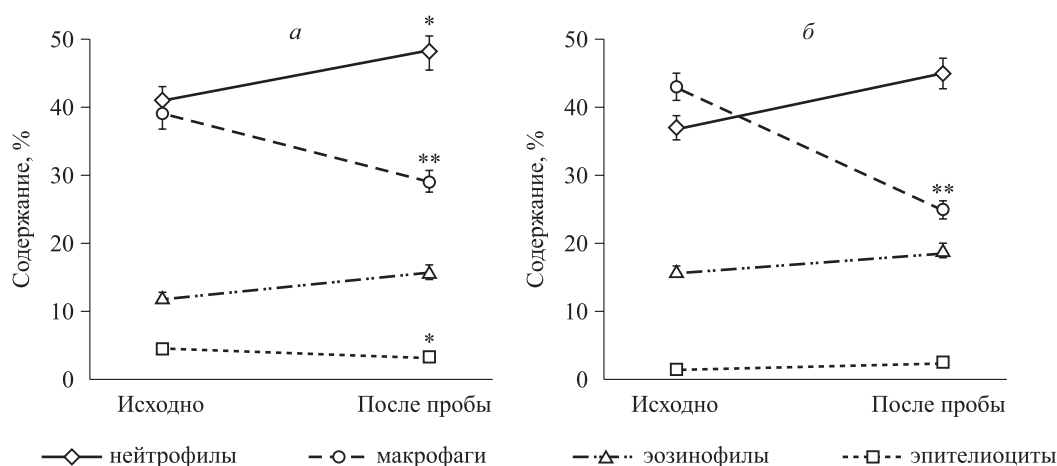


Рис. 1. Доля клеток мокроты больных группы 1 (а) и группы 2 (б) до и после пробы ИГХВ ($M \pm \sigma$); обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих исходных значений: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$

Fig. 1. Proportion of sputum cells of patient group 1 (a) and 2 (b) before and after the IGHV ($M \pm \sigma$); * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ compared to the initial value (by paired t test)

тенденции в увеличении числа нейтрофилов после пробы ИГХВ, мы не получили в данной группе существенного изменения $IFN-\gamma$ в ответ на провокацию по отношению к исходной величине. В то же время содержание $IFN-\gamma$ в КВВ после ингаляции холодного воздуха у них было достоверно ниже, чем у лиц с ХГДП (см. рис. 3). В общей группе больных прослеживалась тесная корреля-

ционная связь ($R_s = -0,68$; $p < 0,05$) между исходным содержанием $IFN-\gamma$ в КВВ и ответом мелких бронхов на холодовой триггер (ΔMOC_{75} , %).

Обсуждение

По всей видимости, изменение содержания $TNF-\alpha$ и $IFN-\gamma$ в КВВ после холодовой провокации можно рассматривать в качестве маркеров

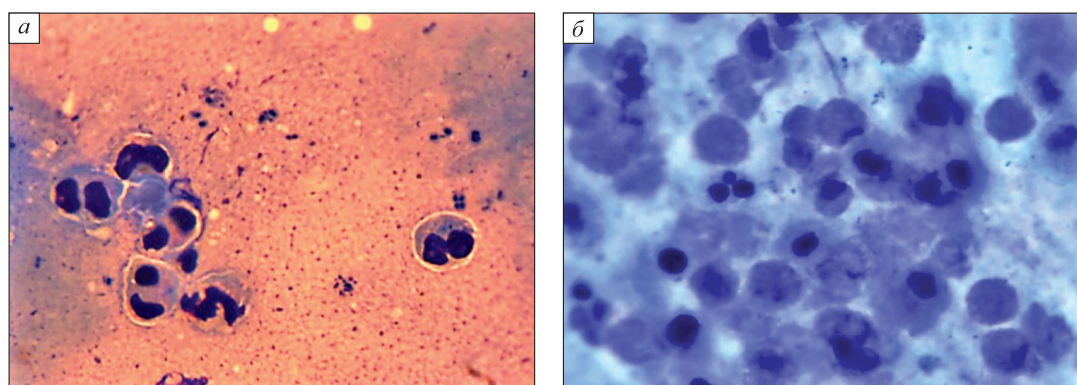


Рис. 2. Мазки индуцированной мокроты больного БА с ХГДП. а – полиморфно-ядерные нейтрофилы с частичным (не более 1/2 объема) деструктивным повреждением цитоплазмы и сохранением структурной целостности ядра. Окраска по Романовскому – Гимзе. Увеличение 1250. б – значительная (более 1/2 объема) и полная деструкция цитоплазмы, частичное и значительное повреждение ядер макрофагов. На фоне деформации цитоплазмы пикноз ядерного хроматина в отдельных макрофагах и нейтрофилах. Многие макрофаги полностью разрушены с распадом цитоплазмы и ядра, признаками цитоллиза. Окраска по Романовскому – Гимзе. Увеличение 1250

Fig. 2. Smears of induced sputum of asthma patient with cold airway hyperresponsiveness. а – polymorphonuclear neutrophils with partial (not more than 1/2 volume) destructive damage of cytoplasm and preservation of the structural integrity of the nucleus. Romanovsky-Giemsa staining. Magnification 1250. б – significant (more than 1/2 volume) and complete destruction of cytoplasm, partial and significant damage of macrophage nuclei. Against the background of cytoplasm deformation, there is nuclear chromatin pycnosis in some macrophages and neutrophils. Many macrophages are completely destroyed, with disintegration of cytoplasm and nucleus, signs of cytolysis. Magnification 1250

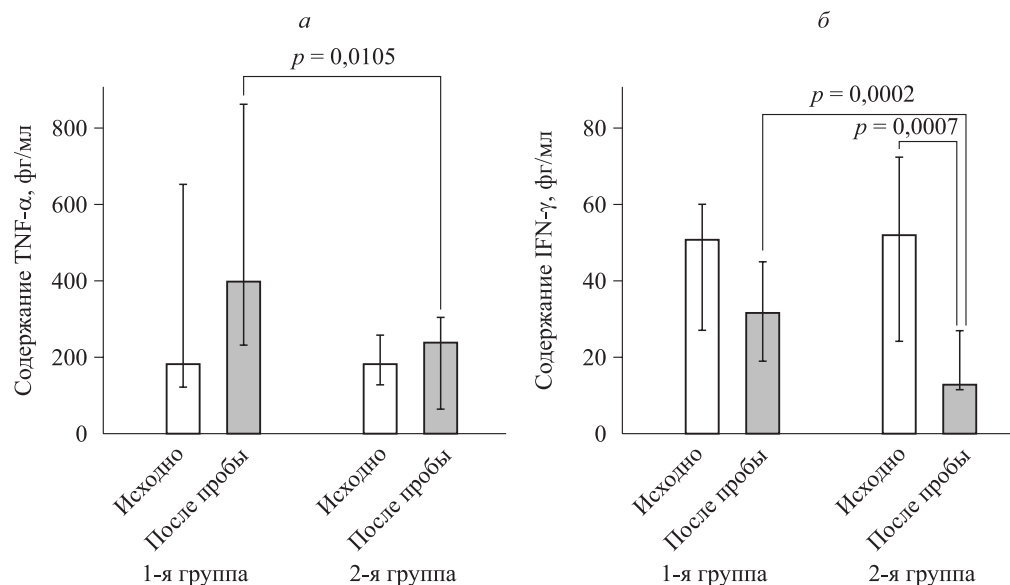


Рис. 3. Концентрация TNF-α (а) и IFN-γ (б) (Me [Q1; Q3]) в КВБ больных БА до и после пробы ИГХВ

Fig. 3. Concentration of TNF-α (a) and IFN-γ (б) (Me [Q1; Q3]) in exhaled breath condensate of asthma patients before and after the isocapnic hyperventilation with cold air

Th1-зависимого иммунного ответа при неаллергическом фенотипе БА, относящемуся к не-T2-эндотипу или Th1-, или Th1/Th17-эндотипам [2, 20, 21]. Стимуляция Th1-ответа, определяющая смешанный характер воспаления у астматиков, связана с ослаблением апоптоза хелперных Т-клеток, продуцирующих IFN-γ (Th1), и усилением апоптоза Т-лимфоцитов, синтезирующих IL-4 (Th2) [2, 20, 21]. Прежде всего, неаллергический фенотип астмы ассоциирован с персистенцией хронического воспаления дыхательных путей вследствие повреждения тканей вирусными и/или бактериальными патогенами [21], напряженностью противоинфекционного иммунитета, увеличением выживаемости нейтрофилов в бронхах, активацией нейтрофильного компонента воспаления [11, 20] и сопровождается нейтрофильным паттерном бронхиального воспаления с повышением активности ряда цитокинов (IL-17, IL-8, TNF-α, IFN-γ и др.), действующих синергично, что приводит к стероидорезистентности [7, 11, 20, 22].

С большой вероятностью общность проявлений болезни в исследованных нами группах с неаллергическим фенотипом БА определяют молекулярные механизмы, в основе которых лежит изменение в секреции TNF-α- и IFN-γ-зависимых Th1-цитокинов. Развитие бронхоспазма в ответ на ингаляционное холодовое воздействие связано с усилением синтеза IFN-γ и поддержанием продукции TNF-α. Th1-зависимый иммунный ответ усиливается мобилизацией нейтрофилов, потенцирующих образование TNF-α, нейтрофи-

лией бронхиального инфильтрата и высоким потенциалом M1-поляризации макрофагов. Регуляция воспалительных сигналов, осуществляемая TNF-α и IFN-γ, может являться движущей силой эскалации воспаления, в неполной мере корригируемой стандартным объемом базисной терапии, который был рекомендован пациентам.

Следует подчеркнуть, что применение у больных неаллергической формой БА традиционной терапии высокими дозами глюкокортикостероидов и/или некоторыми таргетными фармацевтическими средствами, направленными на ингибирование сигнальных путей TNF-α и IFN-γ с целью получения максимального противовоспалительного эффекта, в реальной клинической практике не всегда достижимо. Прежде всего это связано с существующим разнообразием клеточных ответов, опосредованных плейотропным действием цитокинов в ответ на бронхопровокационные триггеры, что вызывает необходимость избирательного подхода к антицитокиновой терапии. Один из таких подходов представляет собой применение рецептор-специфичных биопрепаратов, блокирующих рецептор TNFR1, который индуцирует воспалительные сигналы, регулирующие большинство биологических эффектов TNF-α, в сочетании с использованием агонистов рецептора TNFR2, ограничивающего активность воспаления и стимулирующего тканевой иммунитет [2, 23, 24].

Связывание TNF-α с рецепторами TNFR1 и TNFR2 формирует активный сигнальный комплекс, ассоциированный с внутриклеточным доменом рецепторов, который состоит из мно-

гочисленных адаптеров, киназ и регуляторов убиквитинирования, благодаря чему обеспечиваются такие важные функции TNF- α , как регуляция пролиферации, воспалительной активности и апоптоза макрофагов [2, 6]. Адаптерные белки организуют последовательное привлечение дополнительных киназ, которые активируют основные сигнальные пути, регулирующие провоспалительные функции TNF- α : NF- κ B и MAPK [2, 3]. В макрофагах TNF- α запускает классический NF- κ B-путь через активацию киназы IKK β из киназного комплекса IkB IKK, что приводит к фосфорилированию, убиквитинированию и протеасомной деградации IkB с последующими активацией и перемещением в ядро субъединиц NF- κ B и опосредованной NF- κ B транскрипцией генов провоспалительных цитокинов и хемокинов [2, 6]. Взаимодействие сигналов TNF- α и IFN- γ создает аутокринную петлю иммунного ответа: стимуляция макрофагов TNF- α ведет к продолжительной выработке низких доз IFN- γ , который связывается со специфическим рецептором на поверхности клеток и активирует JAK/STAT-сигнал [2, 6]. Активные гомодимеры STAT1 транслоцируются в ядро, где связываются с промоторными элементами сайта активации IFN- γ и инициируют транскрипцию генов-мишеней STAT1, регулируемых IFN- γ [25, 26].

IFN- γ противодействует эффектам IL-10 как за счет ослабления продукции цитокина, так и за счет супрессии передачи его сигнала. Так как действие IL-10 преимущественно опосредуется STAT3, IFN- γ перекрестно регулирует передачу сигнала IL-10 путем смещения баланса активации STAT IL-10 со STAT3 на STAT1, вызывая подавление экспрессии генов-мишеней STAT3 и индукцию с помощью IL-10 генов-мишеней STAT1 [1, 6]. Путь T-bet, индуцированный IFN- γ , потенцирует сигналы активатора транскрипции Th1 STAT4, подавляя дифференцировку клеток Th2 путем ингибирования экспрессии и/или функции фактора транскрипции Th2 GATA-3 [1, 27]. Также он ингибирует передачу сигнала, связанного с активацией STAT6 и ассоциированного с действием IL-13 и/или IL-4, играющих ведущую роль в перепрограммировании макрофагов в альтернативный M2-фенотип [1, 27]. После связывания IL-13/IL-4 с трансмембранными рецепторами активированные JAK1, JAK3 и TYK2 фосфорилируют неактивный STAT6-мономер, превращая его в активный pSTAT6-димер, транслоцирующийся в ядро [5, 28, 29] и индуцирующий экспрессию GATA-3 – активатора секреции Th2-цитокинов, ингибирующего специфические факторы транскрипции Th1-типа [27, 29]. В свою очередь, это обуславливает аллергическое воспаление и такие

компоненты БА, как гиперреактивность и ремоделирование бронхов.

Ингибирование GATA-3 способствует увеличению экспрессии T-bet и IFN- γ , что приводит к ослаблению аллергического фенотипа астмы [21, 29]. IFN- γ подавляет в клетках Th2 секрецию IL-4, супрессирующего IFN- γ -опосредованную активацию эффекторных функций макрофагов, и противодействует IL-4-зависимой индукции в макрофагах низкоаффинного рецептора к IgE Fc ϵ RII [25, 26]. Таким образом, у больных неаллергической формой БА прицельная фармакотерапевтическая блокада IFN- γ и сигнального пути IFN- γ /STAT1, центральных регуляторов Th1-зависимого иммунного ответа дыхательных путей, может способствовать смещению баланса иммунных реакций Th1/Th2 в сторону Th2, усугублению стимулированного Th2-цитокинами аллергического эозинофильного воспаления и связанных с ним клинических проявлений болезни.

Выявленные в нашем исследовании изменения содержания цитокинов в КВВ больных БА группы 1 после пробы ИГХВ сопряжены с мобилизацией нейтрофилов и макрофагов в мокроте и базируются на взаимодействии IFN- γ и TNF- α , поляризующих иммунный ответ по Th1-типу, с фагоцитарными клетками – эффекторами Th1-инициированного воспаления и продуцентами Th1-цитокинов, включая вышеуказанные. Уменьшение содержания макрофагов у больных с ХГДП при воздействии холода, очевидно, связано с активацией респираторного взрыва в клетках, что сопровождается внутриклеточной лабильностью мембран и матрикса лизосом, дегрануляцией макрофагов, нарастающей в процессе холодового бронхоспазма. Деструктивное повреждение цитоплазмы и ядра присущи и дегранулирующим нейтрофилам, высвобождающим при респираторном взрыве ROS, высокореакционноспособные галогенсодержащие соединения и провоспалительные цитокины, депонированные в гранулах. Нельзя исключить, что произошедшее в результате холодового бронхоспазма увеличение количества нейтрофилов в мокроте больных с ХГДП (см. рис. 1) направлено на компенсацию возможных потерь от функционального истощения клеток активированного нейтрофильного пула, мобилизованного в воспалительном инфильтрате бронхов под влиянием холодового стимула.

Заключение

Реакция на изокапническую гипервентиляцию холодным воздухом у больных неаллергической БА с ХГДП характеризуется повышением в КВВ уровня IFN- γ при отсутствии достоверных изменений содержания TNF- α . Увеличение доли

нейтрофилов в мокроте под влиянием холодового стимула сопровождается уменьшением количества макрофагов и снижением числа структурно целостных эпителиальных клеток в результате воспалительного повреждения, деструкции и цитолиза.

Список литературы / References

1. Hu X., Ivashkiv L.B. Cross-regulation of signaling pathways by interferon- γ : Implications for immune responses and autoimmune diseases. *Immunity*. 2009;31(4):539–550. doi: 10.1016/j.immuni.2009.09.002
2. Ярилин Д.А. Роль фактора некроза опухолей в регуляции воспалительного ответа моноцитов и макрофагов. *Иммунология*. 2014;35(4):195–201.
- Yarilin D.A. The role of tumor necrosis factor in the regulation of the inflammatory response of monocytes and macrophages. *Immunologiya = Immunology*. 2014;35(4):195–201. [In Russian].
3. Locati M., Curtale G., Mantovani A. Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity. *Annu. Rev. Pathol.* 2020;15:123–147. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718
4. Никонова А.А., Хаитов М.Р., Хаитов Р.М. Характеристика и роль различных популяций макрофагов в патогенезе острых и хронических заболеваний легких. *Мед. иммунол.* 2017;19(6):657–672. doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-657-672
- Nikonova A.A., Khaitov M.R., Khaitov R.M. Characteristics and role of macrophages in pathogenesis of acute and chronic lung diseases. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology*. 2017;19(6):657–672. [In Russian]. doi: 10.15789/1563-0625-2017-6-657-672
5. Федоров А.А., Ермак Н.А., Геращенко Т.С., Топольницкий Е.Б., Шефер Н.А., Родионов Е.О., Стахеева М.Н. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции. *Сиб. онкол. ж.* 2022;21(4):124–136. doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136
- Fedorov A.A., Ermak N.A., Gerashchenko T.S., Topolnitsky E.B., Shefer N.A., Rodionov E.O., Stakheeva M.N. Polarization of macrophages: mechanisms, markers and factors of induction. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal = Siberian Journal of Oncology*. 2022;21(4):124–136. [In Russian]. doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136
6. Li M., Wang M., Wen Y., Zhang H., Zhao G.N., Gao Q. Signaling pathways in macrophages: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Med. Comm.* 2023;4(5):e349. doi: 10.1002/mco2.349
7. Pelaia G., Vatrella A., Busceti M.T., Gallelli L., Calabrese C., Terracciano R., Maselli R. Cellular mechanisms underlying eosinophilic and neutrophilic airway inflammation in asthma. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:879783. doi: 10.1155/2015/879783
8. Yamasaki A., Okazaki R., Harada T. Neutrophils and asthma. *Diagnostics (Basel)*. 2022;12(5):1175. doi: 10.3390/diagnostics12051175
9. Marshall C.L., Hasani K., Mookherjee N. Immunobiology of steroid-unresponsive severe asthma. *Front. Allergy*. 2021;2:718267. doi: 10.3389/falgy.2021.718267
10. Kuruvilla M.E., Lee F.E., Lee G.B. Understanding asthma phenotypes, endotypes, and mechanisms of disease. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2019;56(2):219–233. doi: 10.1007/s12016-018-8712-1
11. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Перельман Ю.М. Клинические и патогенетические аспекты нейтрофильного воспаления бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (обзор литературы). *Бюл. сиб. мед.* 2023;22(1):143–152. doi: 10.20538/1682-0363-2023-1-143-152
- Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Perelman J.M. Clinical and pathogenetic aspects of neutrophilic bronchial inflammation in asthma patients with cold-induced airway hyperresponsiveness (literature review). *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):143–152. [In Russian]. doi: 10.20538/1682-0363-2023-1-143-152
12. Jiang Z., Zhu L. Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma. *J. Asthma Allergy*. 2016;9:101–107. doi: 10.2147/jaa.s104508
13. Arora S., Deva K., Agarwal B., Dasc P., Ali Syed M. Macrophages: Their role, activation and polarization in pulmonary diseases. *Immunobiology*. 2018;223(4-5):383–396. doi: 10.1016/j.imbio.2017.11.001
14. Воронина Е.В., Лобанова Н.В., Яхин И.Р., Романова Н.А., Серегин Ю.А. Роль фактора некроза опухолей-альфа в иммунопатогенезе заболеваний различной этиологии и его значимость в развитии антицитокиновой терапии моноклональными антителами. *Мед. иммунол.* 2018;20(6):797–806. doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-797-806
- Voronina E.V., Lobanova N.V., Yakhin I.R., Romanova N.A., Seregin Yu.A. Role of tumor necrosis factor alpha in immune pathogenesis of different diseases and its significance for evolving anticytokine therapy with monoclonal antibodies. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology*. 2018;20(6):797–806. [In Russian]. doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-797-806
15. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2023 update). Available at: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2023/07/GINA-2023-Full-report-23_07_06-WMS.pdf
16. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с.
- Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka, 2011. 204 p. [In Russian].

17. Dragonieri S., Bikov A., Capuano A., Scarlata S., Carpagnano G.E. Methodological aspects of induced sputum. *Adv. Respir. Med.* 2023;91(5):397–406. doi: 10.3390/arm91050031
18. Konstantinidi E.M., Lappas A.S., Tzortzi A.S., Behrakis P.K. Exhaled breath condensate: technical and diagnostic aspects. *ScientificWorldJournal*. 2015;2015:435160. doi: 10.1155/2015/435160
19. Ульянычев Н.В. Системность научных исследований в медицине. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014. 140 с.
- Ul'yanychev N.V. Systematic research in medicine. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014. 140 p. [In Russian].
20. Трушина Е.Ю., Костина Е.М., Баранова Н.И., Типикин В.А. Роль цитокинов как молекулярных маркеров воспаления при неаллергической бронхиальной астме. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2018;(4):179.
- Trushina E.Yu., Kostina E.M., Baranova N.I., Tipikin V.A. The cytokines role as inflammation molecular markers in non-allergic bronchial asthma. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2018;(4):179. [In Russian].
21. Frey A., Lunding L.P., Ehlers J.C., Weckmann M., Zissler U.M., Wegmann M. More than just a barrier: The immune functions of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Front. Immunol.* 2020;11:761. doi: 10.3389/fimmu.2020.00761
22. Singh S., Dutta J., Ray A., Karmakar A., Mabalirajan U. Airway epithelium: A neglected but crucial cell type in asthma pathobiology. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(4):808. doi: 10.3390/diagnostics13040808
23. Salomon Benoit L. Insights into the biology and therapeutic implications of TNF and regulatory T cells. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2021;17(8):487–504. doi: 10.1038/s41584-021-00639-6
24. Daniela S., Harald W. NF and TNF receptors as therapeutic targets for rheumatic diseases and beyond. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2023;19(9):576–591. doi: 10.1038/s41584-023-01002-7
25. Schroder K., Hertzog P.J., Ravasi T., Hume D.A. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.* 2004;75(2):163–189. doi: 10.1189/jlb.0603252
26. Луцкий А.А., Жирков А.А., Лобзин Д.Ю., Рао М., Алексеева Л.А., Мейер М., Лобзин Ю.В. Интерферон-γ: биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа. *Ж. инфектол.* 2015;7(4):10–22. doi: 10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22
- Lutsii A.A., Zhirkov A.A., Lobzin D.Yu., Rao M., Alekseeva L.A., Meyrer M., Lobzin Yu.V. Interferon-γ: biological function and application for study of cellular immune response. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*. 2015;7(4):10–22. [In Russian]. doi: 10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22
27. Usui T., Preiss J.C., Kanno Y., Yao Z.J., Bream J.H., O'Shea J.J., Strober W. T-bet regulates Th1 responses through essential effects on GATA-3 function rather than on *IFNG* gene acetylation and transcription. *J. Exp. Med.* 2006;203(3):755–766. doi: 10.1084/jem.20052165
28. Shuai K., Liu B. Regulation of JAK-STAT signalling in the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2003;3(11):942–954. doi: 10.1038/nri1226
29. Hertweck A., Vila de Mucha M., Barber P.R., Dagil R., Porter H., Ramos A., Lord G.M., Jenner R.G. The TH1 cell lineage-determining transcription factor T-bet suppresses TH2 gene expression by redistributing GATA3 away from TH2 genes. *Nucleic Acids Res.* 2022;50(8):4557–4573. doi: 10.1093/nar/gkac258

Сведения об авторах:

Пирогов Алексей Борисович, к.м.н., ORCID: 0000-0001-5846-3276, e-mail: dncfpd@dncfpd.ru
Приходько Анна Григорьевна, д.м.н., ORCID: 0000-0003-2847-7380, e-mail: prih-anya@ya.ru
Пирогова Наталья Алексеевна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-6350-7392, e-mail: natalia.piroghova@inbox.ru
Перельман Юлий Михайлович, д.м.н., чл.-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-9411-7474, e-mail: jperelman@mail.ru

Information about the authors:

Aleksey B. Pirogov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-5846-3276, e-mail: dncfpd@dncfpd.ru
Anna G. Prihodko, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2847-7380, e-mail: prih-anya@ya.ru
Natalia A. Pirogova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-6350-7392, e-mail: natalia.piroghova@inbox.ru
Juliy M. Perelman, doctor of medical sciences, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0002-9411-7474, e-mail: jperelman@mail.ru

Поступила в редакцию 22.03.2024
После доработки 16.04.2024
После повторной доработки 19.07.2024
Принята к публикации 21.07.2024

Received 22.03.2024
Revision received 16.04.2024
Second revision received 19.07.2024
Accepted 21.07.2024