

УДК 616-002-008.953-092:613.84:577.29

DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-24-32

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ TRP КАНАЛОВ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ МОКРОТЫ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ С ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ БРОНХИАЛЬНОЙ ОБСТРУКЦИЕЙ

Д.Е.Наумов, И.Ю.Сугайло, Д.А.Гассан, О.О.Котова, Я.Г.Горчакова, Е.Г.Шелудько

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – патология, сопровождающаяся нарастающим и необратимым ухудшением проходимости дыхательных путей. Известно, что макрофаги респираторного тракта принимают активное участие в перестройке внеклеточного матрикса, приводя к развитию ремоделирования бронхов. **Цель.** Оценить взаимосвязи между скоростью прогрессирования бронхиальной обструкции при ХОБЛ, экспрессией TRP каналов на альвеолярных макрофагах и уровнями гуморальных маркеров воспаления в респираторном тракте. **Материалы и методы.** Обследовано 37 больных ХОБЛ, в том числе 23 человека со скоростью снижения ОФВ₁ ≥ 50 мл/год и 14 – с уменьшением ОФВ₁ < 50 мл/год. Экспрессию каналов TRPV1, TRPV4, TRPA1, TRPM8 определяли на альвеолярных макрофагах методом проточной цитометрии. Анализ цитокинов выполняли в супернатанте мокроты методом мультиплексного анализа на проточном цитометре. **Результаты.** Установлено, что у больных с прогрессирующей бронхиальной обструкцией экспрессия TRPV4 была достоверно увеличена: 14,2 (10,8; 23,4)% против 8,6 (3,6; 15,4)% ($p=0,03$). Кроме этого, в общей группе пациентов была выявлена высокосignальная обратная корреляция между величиной экспрессии TRPV4 и динамикой ОФВ₁ ($p=-0,52$, $p<0,001$). Пациенты со снижением ОФВ₁ ≥ 50 мл/год характеризовались значимым увеличением уровней IL-2, IL-4, IL-17A, IL-10, IL-12p70, CXCL10 и MCP-1. Дополнительно мы обнаружили, что концентрации некоторых цитокинов были прямо взаимосвязаны с экспрессией TRPV4 на макрофагах: IL-4 ($p=0,51$, $p=0,001$), CXCL10 ($p=0,59$, $p<0,001$), MCP-1 ($p=0,56$, $p<0,001$), TGF- $\beta 1$ ($p=0,42$, $p=0,009$), IFN- γ ($p=0,37$, $p=0,02$). **Заключение.** Каналы TRPV4, экспрессированные на альвеолярных макрофагах, вовлечены в воспалительный процесс и ремоделирование дыхательных путей при ХОБЛ, что проявляется взаимосвязями с уровнем продукции ряда цитокинов, а также скоростью прогрессирования бронхиальной обструкции.

Ключевые слова: макрофаги, ХОБЛ, курение, TRPV1, TRPV4, TRPM8, TRPA1, воспаление, бронхиальная обструкция.

PECULIARITIES OF TRP CHANNELS EXPRESSION AND CYTOKINE PROFILE OF SPUTUM IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE AND PROGRESSIVE BRONCHIAL OBSTRUCTION

D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, D.A.Gassan, O.O.Kotova, Y.G.Gorchakova, E.G.Sheludko

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

SUMMARY. Introduction. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a pathology accompanied by a progressive and irreversible deterioration in airway patency. It is known that macrophages of the respiratory tract are actively involved in the reorganization of the extracellular matrix leading to the development of bronchial remodeling. **Aim.** To

Контактная информация

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: denn1985@bk.ru

Correspondence should be addressed to

Denis E. Naumov, PhD (Med.), Head of Laboratory, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: denn1985@bk.ru

Для цитирования:

Наумов Д.Е., Сугайло И.Ю., Гассан Д.А., Котова О.О., Горчакова Я.Г., Шелудько Е.Г. Особенности экспрессии TRP каналов и цитокиновый профиль мокроты у больных хронической обструктивной болезнью легких с прогрессирующей бронхиальной обструкцией // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2022. Вып.86. С.24–32. DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-24-32

For citation:

Naumov D.E., Sugaylo I.Yu., Gassan D.A., Kotova O.O., Gorchakova Y.G., Sheludko E.G. Peculiarities of TRP channels expression and cytokine profile of sputum in patients with chronic obstructive pulmonary disease and progressive bronchial obstruction. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (86):24–32 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2022-86-24-32

assess the relationship between the progression rate of bronchial obstruction in COPD, the expression of TRP channels on alveolar macrophages, and the levels of inflammatory markers in the respiratory tract. **Materials and methods.** The study enrolled 37 patients with COPD, including 23 people with a FEV_1 deterioration ≥ 50 ml/year and 14 with FEV_1 decline < 50 ml/year. The expression of TRPV1, TRPV4, TRPA1, TRPM8 channels was determined on alveolar macrophages by flow cytometry. Analysis of cytokines was performed in sputum supernatant by multiplex assay on a flow cytometer. **Results.** It was found that in patients with progressive bronchial obstruction TRPV4 expression was significantly increased: 14.2 (10.8; 23.4)% vs. 8.6 (3.6; 15.4)% ($p=0.03$). In addition, in the general group of patients a highly significant inverse correlation was found between TRPV4 expression and the dynamics of FEV_1 ($\rho=-0.52$, $p<0.001$). Patients with a decrease in $FEV_1 \geq 50$ ml/year were characterized by significantly elevated levels of IL-2, IL-4, IL-17A, IL-10, IL-12p70, CXCL10 and MCP-1. Additionally, we found that concentrations of several cytokines were directly correlated with TRPV4 expression on macrophages: IL-4 ($\rho=0.51$, $p=0.001$), CXCL10 ($\rho=0.59$, $p<0.001$), MCP-1 ($\rho=0.56$, $p<0.001$), TGF- $\beta 1$ ($\rho=0.42$, $p=0.009$), IFN- γ ($\rho=0.37$, $p=0.02$). **Conclusion.** TRPV4 channels expressed on alveolar macrophages are involved in the inflammatory process and airway remodeling in COPD, which is manifested by their relationships with the level of certain cytokines production, as well as the rate of the progression of bronchial obstruction.

Key words: macrophages, COPD, smoking, TRPV1, TRPV4, TRPM8, TRPA1, inflammation, bronchial obstruction.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – распространенное заболевание с высокой смертностью и социально-экономическим бременем. Прямые затраты здравоохранения, ассоциированные с ХОБЛ, в странах Европы в среднем составляют 6182 евро в год на одного больного, в азиатских странах – 9172 долларов, а в США – 9981 долларов [1]. Ключевым признаком ХОБЛ является прогрессирующее снижение бронхиальной проходимости с формированием не полностью обратимой бронхиальной обструкции. Несмотря на исходное предположение об ускорении темпов снижения бронхиальной проходимости по мере увеличения тяжести ХОБЛ, более поздние научные работы показали, что это не так. По результатам анализа более 10 продольных исследований установлено, что среди пациентов со стадией II снижение ОФВ₁ составляло 47-79 мл/год, со стадией III – 56-59 мл/год, а у больных с IV стадией ХОБЛ было минимальным (< 35 мл/год). Таким образом, видно, что отрицательная динамика ОФВ₁ по мере нарастания бронхиальной обструкции, напротив, замедляется [2]. Факторы, ассоциированные с ускоренным снижением показателей проходимости дыхательных путей при ХОБЛ, включают старший возраст, высокий социально-экономический статус, низкую массу тела, выраженную одышку, тяжелые или частые обострения, а также курение, прием ингаляционных глюкокортикоидов и невысокую степень бронхиальной обструкции [3]. Было отмечено, что даже единичное обострение ХОБЛ способно приводить к существенному ускорению темпов снижения ОФВ₁ (в среднем на 37,5 мл/год) [4]. Влияние курения на скорость прогрессирования бронхиальной обструкции более подробно было исследовано A.Y.Leem et al. Анализ, проведенный среди лиц мужского пола, установил, что наиболее быстрое ухудшение бронхиальной проходимости наступает у активных курильщиков без признаков бронхиальной обструкции (40,1 мл/год), за ними следуют здоровые лица, бросившие курить (35,5 мл/год), курильщики с бронхиальной обструкцией (33,9 мл/год), и наконец, здоровые, никогда не курившие лица (31,8 мл/год) и больные обструктивной патологией, бросившие курить (19,7 мл/год) [5].

Схожие данные относительно темпов снижения вентиляционной функции легких с возрастом были получены E.T.Thomas et al. У лиц, не страдающих ХОБЛ, снижение ОФВ₁ составляет от 17,7 до 46,4 мл/год (медианное значение – 22,4 мл/год), при этом у мужчин оно происходит быстрее, чем у женщин (43,5 мл/год против 30,5 мл/год соответственно) [6]. В корейской популяции среди здоровых мужчин снижение ОФВ₁ также было более выраженным, по сравнению с женщинами (31,3 [28,5-34,1] мл/год против 27,0 [25,9-28,1] мл/год) [5]. Непосредственное сравнение темпов снижения ОФВ₁ между больными ХОБЛ и здоровыми лицами старше 60 лет, проведенное A.Rosso et al. также убедительно демонстрирует отличие в скорости нарастания бронхиальной обструкции при ХОБЛ. У больных лиц годовое снижение ОФВ₁ в среднем находилось на уровне 66,3 95%ДИ (56,4-76,3) мл и было значительно выше по отношению к контрольной группе (43,3 95%ДИ [41,2-45,5] мл) [7]. Несмотря на то, что определенные фармакотерапевтические возможности влиять на прогрессирование ХОБЛ имеются, они остаются довольно ограниченными. По данным систематического обзора нескольких крупных исследований, назначение современных препаратов (длительно действующие $\beta 2$ -агонисты, холинолитики и ингаляционные глюкокортикоиды) приводило к уменьшению отрицательной динамики ОФВ₁ в среднем лишь на 5 95%ДИ (0,8–9,1) мл/год, по сравнению с плацебо [8]. Таким образом, актуальным остается вопрос поиска новых фармакологических мишеней и разработки более эффективных подходов к лекарственной терапии данного заболевания.

Макрофаги являются клетками иммунной системы, которые наиболее распространены в респираторном тракте. Выполняя функции фагоцитоза, эффероцитоза, а также секретируя различные цитокины, оказывающие эффект на функциональную активность других лейкоцитов, данные клетки существенным образом влияют на течение воспалительного процесса и ремоделирование дыхательных путей при ХОБЛ [9]. Ранее нами были изучены особенности экспрессии четырех основных каналов с транзитным рецепторным по-

тенциалом (TRP), чувствительных к сигаретному дыму и пылевым частицам – основным этиологическим факторам заболевания, на макрофагах при ХОБЛ, и установлено преобладание экспрессии TRPV1 на клетках больных лиц [10]. Целью настоящего исследования являлась оценка взаимосвязей между скоростью прогрессирования бронхиальной обструкции при ХОБЛ, экспрессией TRP каналов на альвеолярных макрофагах и уровнями гуморальных маркеров воспаления в респираторном тракте.

Материалы и методы исследования

Исследования проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправками 2013 г. и нормативными документами «Правила надлежащей клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом №200н от 01.04.2016 МЗ РФ. Все лица подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания».

В исследование были включены 37 больных ХОБЛ с различной степенью вентиляционных нарушений. Для выявления степени бронхиальной обструкции и скорости ее прогрессирования всем лицам дважды, с интервалом один год, проводили спирометрию на аппарате Easy on-PC (nddMedizintechnik AG, Швейцария) с определением основных параметров кривой поток-объем форсированного выдоха, в том числе объема форсированного выдоха за 1-ю сек (ОФВ₁). С целью оценки динамики бронхиальной проходимости определяли разницу между полученными значениями ОФВ₁ в миллилитрах (ΔОФВ₁). Все измерения выполняли вне обострения заболевания на фоне действия бронхолитика для определения необратимого компонента бронхиальной обструкции. Средний возраст больных составил 57,8±1,83 лет, индекс курения – 36,6±2,50 пачка-лет, преобладали пациенты с тяжелой бронхиальной обструкцией (GOLD stage III – 51,3%). Спонтанно продуцируемую мокроту собирали в стерильные контейнеры, взвешивали, добавляли двукратный объем 0,1% дитиотреитола и инкубировали при 4°C в течение 20 мин. После окончания инкубации образец фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 45 мкм, центрифугировали при 400 g в течение 5 мин, отбирали и замораживали супернатант для последующего анализа, а клеточный осадок однократно отмывали фосфатно-солевым буфером и ресуспендировали в этом же буфере.

Уровень экспрессии TRP каналов на альвеолярных макрофагах определяли с помощью непрямой проточной цитометрии на аппарате FACS Canto II (Becton

Dickinson, США). Лейкоциты мокроты определяли по положительной окраске антителами к CD45-APC-H7 (Becton Dickinson, США). Макрофаги гейтировали как CD45+ популяцию клеток, обладающую характерной аутофлуоресценцией в каналах FITC и PE. С целью оценки экспрессии каналов TRP клетки инкубировали с первичными кроличьими поликлональными антителами к TRPA1, TRPM8, TRPV1, TRPV4 (Alomone Labs, Израиль) или изотопическими антителами в эквивалентной концентрации, а затем с вторичными антителами к IgG кролика, конъюгированными с Alexa Fluor 647 (Abcam, Великобритания). Детекцию TRPV1 проводили внутриклеточно, пермеабилизируя клетки с 0,2% Tween 20 в течение 15 мин. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью красителя LIVE/DEAD (Invitrogen, США). Величину экспрессии TRP определяли по сравнению с изотипическим контролем и выражали в виде процента положительно окрашенных клеток.

Концентрации цитокинов IL-4, IL-2, CXCL10, IL-1β, TNF-α, MCP-1, IL-17A, IL-6, IL-10, IFN-γ, IL-12p70, IL-8, TGF-β1 в мокроте определяли с помощью мультиплексного анализа коммерческими наборами LEGENDplex (BioLegend, США) на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (Becton Dickinson, США). Полученные концентрации умножали на фактор разведения для вычисления истинной концентрации цитокинов в исходном образце.

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Все данные представлены в формате M±m – среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего, либо Me (Q1; Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью t критерия или критерия U Манна-Уитни, в зависимости от нормальности распределения переменных. Поиск взаимосвязи между количественными переменными проводили с использованием рангового корреляционного анализа Спирмена. Ассоциации для качественных переменных оценивали с помощью критерия χ² Пирсона. В качестве критического уровня значимости принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Принимая 50 мл/год в качестве граничного значения скорости снижения ОФВ₁, все обследованные пациенты были разделены на две группы. В первую группу вошли лица с прогрессирующей бронхиальной обструкцией (23 человека с ΔОФВ₁ ≥50 мл/год), а во вторую – без прогрессирующей обструкции (14 человек с ΔОФВ₁ <50 мл/год). Краткая сравнительная характеристика групп пациентов по основным клинико-функциональным параметрам приведена в таблице. Больные с прогрессирующей обструкцией отличались более высоким исходным ОФВ₁ и наличием частых обострений заболевания.

Таблица

Сравнительная клинико-функциональная характеристика больных ХОБЛ

Показатель	Группа 1 (n=32)	Группа 2 (n=14)	Значимость различий (p)
Возраст, лет	59,3±2,34	55,4±2,93	0,31
Мужской пол, %	78,2	85,7	0,57
Индекс массы тела, кг/м ²	26,9±1,32	26,2±1,53	0,40
Индекс курения, пачка-лет	39,8±3,39	30,9±2,86	0,09
ОФВ ₁ исх., %	49,8±3,71	36,6±3,81	0,02
ΔОФВ ₁ , мл/год	-130 (-240; -90)	48,5 (-20; 120)	<0,001
Обострения ≥2 в год, %	82,6	28,6	0,001

Макрофаги пациентов с прогрессирующей бронхиальной обструкцией отличались более высокими медианными значениями экспрессии всех исследованных TRP каналов, однако статистически значимое увеличение экспрессии было найдено только для TRPV4 (рис. 1). Число экспрессирующих его клеток составляло 14,2

(10,8; 23,4)% против 8,6 (3,6; 15,4)% в группах с наличием и отсутствием прогрессирующей бронхиальной обструкции соответственно (p=0,03). Кроме этого, в общей группе пациентов была выявлена высокозначимая обратная корреляция между величиной экспрессии TRPV4 и ΔОФВ₁ (p=-0,52, p<0,001).

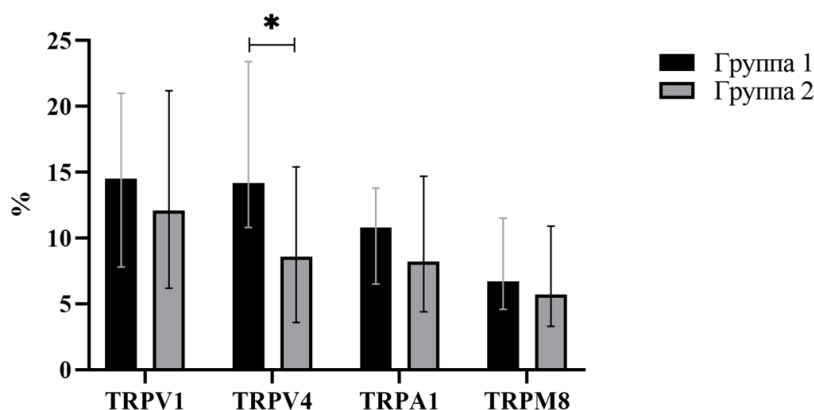


Рис. 1. Экспрессия каналов TRPV1, TRPV4, TRPA1 и TRPM8 на альвеолярных макрофагах больных ХОБЛ с наличием (группа 1) и отсутствием (группа 2) прогрессирующей бронхиальной обструкции. Значимость различий: * – p≤0,05.

При анализе цитокинового профиля мокроты было установлено, что больные ХОБЛ с прогрессирующей бронхиальной обструкцией в целом демонстрируют более высокие значения воспалительных медиаторов (рис 2). Тем не менее, статистически значимые различия были выявлены только для IL-2 (4,1 [1,4; 5,5] пг/мл против 0,1 [0; 2,8] пг/мл, p=0,002), IL-17A (4,1 [1,5; 9,2] пг/мл против 0,1 [0; 2,8] пг/мл, p=0,005), IL-4 (46,4 [20,9; 89,0] пг/мл против 20,9 [12,4; 37,9] пг/мл, p=0,02), IL-10 (46,8 [36,8; 52,7] пг/мл против 30,8 [18,6; 48,8] пг/мл, p=0,02), IL-12p70 (70,7 [47,3; 76,8] пг/мл против 47,3 [24,5; 58,3] пг/мл, p=0,01), CXCL10 (50,6 [22,9; 86,9] пг/мл против 17,3 [11,1; 46,4] пг/мл, p=0,04) и MCP-1 (75,7 [25,7; 140,7] пг/мл против 22,3 [0; 49,8] пг/мл,

p=0,03). Корреляционный анализ позволил установить взаимосвязи с динамикой ОФВ₁ для следующих цитокинов: IL-2 (p=-0,62, p<0,001), IL-4 (p=-0,54, p<0,001), IL-17A (p=-0,45, p=0,005), MCP-1 (p=-0,43, p=0,008), IFN-γ (p=-0,42, p=0,009), IL-10 (p=-0,41, p=0,01), IL-12p70 (p=-0,35, p=0,03), CXCL10 (p=-0,40, p=0,01) и TGF-β1 (p=-0,33, p=0,04).

Дополнительно мы обнаружили, что уровни некоторых медиаторов были прямо взаимосвязаны с экспрессией канала TRPV4 на макрофагах: IL-4 (p=0,51, p=0,001), CXCL10 (p=0,59, p<0,001), MCP-1 (p=0,56, p<0,001), TGF-β1 (p=0,42, p=0,009), IFN-γ (p=0,37, p=0,02).

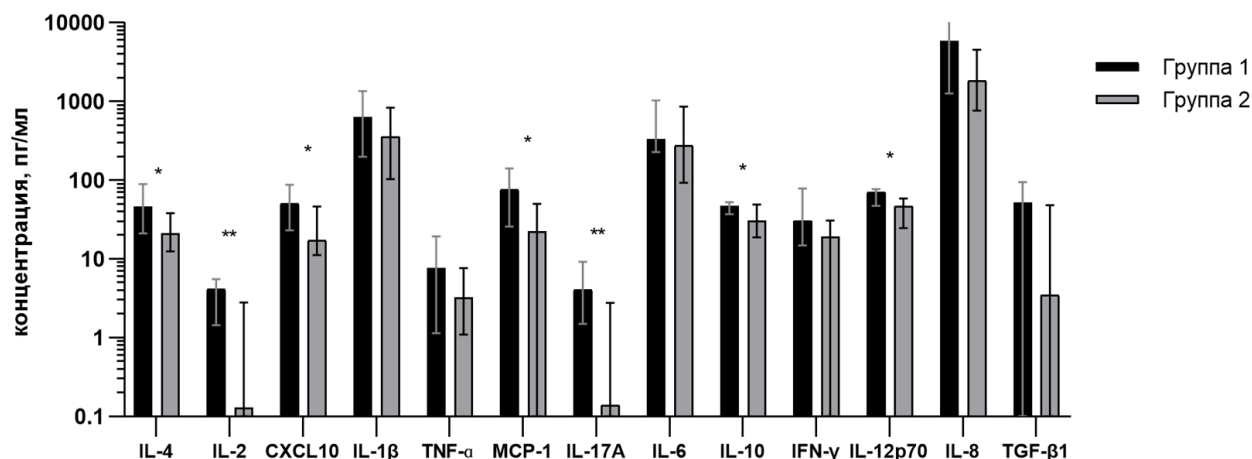


Рис. 2. Концентрации цитокинов в мокроте обследованных больных ХОБЛ в зависимости от наличия прогрессирующей бронхиальной обструкции. Значимость различий: * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$.

В настоящем исследовании был впервые затронут вопрос особенностей экспрессии каналов TRP на макрофагах больных ХОБЛ в зависимости от скорости прогрессирования бронхиальной обструкции. Канал TRPV4, увеличенная экспрессия которого была найдена у пациентов с прогрессирующим снижением ОФВ₁, представляет собой тетрамерный рецепторный белок, способный активироваться различными физическими и химическими факторами, среди которых низкое осмотическое давление, температура (около 27°C и выше), жирные кислоты – арахидоновая и эпоксизатриеновые, эндоканнабиноиды – анандамид и 2-арахидоноил-глицерол [11].

Важным стимулом, активирующим TRPV4, также является механический фактор, действие которого, прежде всего, обусловлено жесткостью внеклеточного матрикса, которая, в свою очередь, преимущественно регулируется относительной интенсивностью процессов образования и деструкции коллагена [11]. Ранее неоднократно демонстрировалось, что жесткость матрикса может различным образом влиять на состояние поляризации макрофагов, обуславливая формирование провоспалительного или противовоспалительного фенотипа клеток. К сожалению, данные, указывающие, как именно фенотип макрофагов зависит от жесткости субстрата, на котором производится культивирование, остаются противоречивыми [12, 13]. Кроме этого, TRPV4, экспрессированный на макрофагах, выполняет важную роль в регуляции скорости ремоделирования соединительной ткани. Так, известно, что активация канала приводит к увеличению продукции металлопротеиназ, но с другой стороны, в присутствии TGF-β1, TRPV4, напротив, подавляет деградацию внеклеточного матрикса [14]. При этом блокирование TRPV4 на кератиноцитах предотвращает развитие эпителиально-мезенхимального перехода под влиянием TGF-β1 и механического стимула [15]. Существует и обратная взаимосвязь между ремоделированием и TRPV4: данные R.Goswami et al.

свидетельствуют, что повышенная жесткость внеклеточного матрикса может влиять на экспрессию TRPV4, увеличивая число рецепторов в плазматической мембране клеток [16]. Таким образом, обнаруженное нами увеличение экспрессии TRPV4 на макрофагах больных ХОБЛ с прогрессирующей обструкцией в целом закономерно, поскольку указывает на более выраженную перестройку соединительной ткани у данных пациентов. Тем не менее, предположить, как именно активность канала на макрофагах влияет на процессы образования и разрушения коллагена в настоящий момент сложно, что обусловлено известной двойственностью функций TRPV4 в данном аспекте. Также, довольно комплексными и неоднородными являются и сами процессы структурной перестройки внеклеточного матрикса при ХОБЛ. Например, в мелких дыхательных путях его жесткость нарастает, в эмфизематозно измененной паренхиме легких она снижается, а в пока еще здоровых альвеолярных стенках остается практически неизменной по сравнению со здоровыми людьми [17].

Обнаруженные в ходе исследования особенности цитокинового профиля свидетельствуют, что высокие темпы снижения вентиляционной функции легких прежде всего взаимосвязаны с уровнем интерлейкинов IL-2, IL-4 и IL-17A. Интересно, что данные медиаторы являются ключевыми для дифференцировки Т-клеток в различные фенотипы и могут служить маркерами соответствующего типа воспалительной реакции: Th1 (IL-2), Th2 (IL-4) и Th17 (IL-17A). Данные об увеличенной продукции данных цитокинов при ХОБЛ и их важной роли в патогенезе заболевания встречались и ранее [18]. Более того, уровни IL-2, IFN-γ, IL-4, IL-10, IL-17 были выше у больных ХОБЛ при обострении, по сравнению со случаями стабильного течения заболевания. Авторы также зафиксировали, что обострение ХОБЛ ассоциировано с относительным снижением соотношения Th1/Th2 цитокинов [19]. В нашем случае все больные ХОБЛ были обследованы вне обострения,

хотя для пациентов с прогрессирующей бронхиальной обструкцией действительно были характерны более частые обострения в анамнезе. Мы не исключаем, что концентрации IL-2, IL-4 и IL-17A не только возрастают на фоне обострений, но и могут поддерживаться на высоком уровне в течение длительного времени после их купирования, что опосредует пролонгированный эффект обострений на динамику снижения ОФВ₁.

Патогенетически обоснованной представляется выявленная ассоциация IL-17A с прогрессированием бронхиальной обструкции. Данный интерлейкин является индуктором нейтрофильного воспаления, в том числе за счет увеличения экспрессии IL-8 макрофагами и эпителиальными клетками, а также тесно вовлечен в процессы ремоделирования дыхательных путей с участием TGF- β 1. Интересно, что выявленное у больных с прогрессирующей бронхиальной обструкцией увеличение IL-4 также может быть опосредовано влиянием IL-17A. В частности, экспериментальная стимуляция клеток бронхиального эпителия IL-17A приводила к росту продукции тимусного стромального лимфопоэтина (TSLP), который известен своей способностью вызывать дифференцировку Т-клеток по Th2 типу с секрецией соответствующих интерлейкинов, в том числе IL-4 [20]. Важным фактором представляется наличие синергетического эффекта между IL-17A, IL-4 и TGF- β 1 в индукции эпителиально-мезенхимального перехода в клетках респираторного эпителия [21]. При этом доказано, что данная трансформация является одной из ключевых причин развития фиброза и ремоделирования дыхательных путей при ХОБЛ [22].

Обращает на себя внимание тот факт, что TRPV4 был ассоциирован не только с темпами прогрессирования ХОБЛ, но и с продукцией некоторых цитокинов. Помимо упомянутых IL-4 и TGF- β 1, экспрессия TRPV4 была значимо взаимосвязана с концентрациями CXCL10 и MCP-1 в мокроте. О патологической роли данных хемокинов при ХОБЛ прежде уже сообщали H.Jing et al. и A.Di Stefano et al. Так, блокирование CXCL10 предотвращает развитие ХОБЛ под действием сигаретного дыма у мышей [23], а уровень MCP-1 увеличен в плазме больных ХОБЛ с эмфизематозной, но не бронхитической формой заболевания [24].

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют, что TRPV4 вовлечен в воспалительный процесс и ремоделирование

дыхательных путей при ХОБЛ, что проявляется его взаимосвязями с уровнем продукции ряда воспалительных медиаторов, а также скоростью прогрессирования бронхиальной обструкции. Было впервые продемонстрировано, что для больных с прогрессирующим снижением ОФВ₁ (≥ 50 мл/год) характерна более высокая экспрессия TRPV4 на альвеолярных макрофагах, по сравнению с теми пациентами, у которых скорость прогрессирования не превышает 50 мл/год. Учитывая полимодальность в отношении активирующих стимулов, TRPV4 продолжает оставаться патогенетическим звеном ХОБЛ даже в случае, когда первичные этиологические факторы (дым, пылевые частицы) прекратили свое воздействие. По-видимому, в этом случае основную роль в поддержании патологического сигналинга TRPV4 начинают играть биофизические свойства внеклеточного матрикса, а также эндогенные агонисты данного катионного канала. Основной проблемой на пути к дальнейшей более детальной характеристике механизмов, за счет которых активация TRPV4 приводит к ускоренному ремоделированию и нарастанию бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ, является сложность экспериментального воспроизведения всего множества условий и факторов, характерных для патологического процесса *in vivo*. Опыт прежде выполненных работ по данному направлению свидетельствует о том, что важно учитывать состав и жесткость внеклеточного матрикса, возможность взаимодействия клеток различных типов, гуморальный фон, обусловленный особенностями цитокинового паттерна. В этом аспекте наиболее перспективным может быть проведение исследований на моделях *ex vivo*, в том числе, с использованием децеллюляризованных матриксов, биологических сред и клеток, полученных из респираторного тракта больных лиц.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Источники финансирования

Исследование проводилось без участия спонсоров

Funding Sources

This study was not sponsored

ЛИТЕРАТУРА

1. Gutiérrez Villegas C., Paz-Zulueta M., Herrero-Montes M., Parás-Bravo P., Madrazo Pérez M. Cost analysis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a systematic review // Health Econ. Rev. 2021. Vol.11, Iss.1. Article number: 31. <https://doi.org/10.1186/s13561-021-00329-9>
2. Tantucci C., Modina D. Lung function decline in COPD // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. 2012. Vol.7. P.95–99. <https://doi.org/10.2147/COPD.S27480>
3. Whittaker H.R., Pimenta J.M., Jarvis D., Kiddle S.J., Quint J.K. Characteristics Associated with Accelerated Lung Function Decline in a Primary Care Population with Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. 2020. Vol.15. P.3079–3091. <https://doi.org/10.2147/COPD.S278981>

4. Halpin D.M.G., Decramer M., Celli B.R., Mueller A., Metzdorf N., Tashkin D.P. Effect of a single exacerbation on decline in lung function in COPD // *Respir. Med.* 2017. Vol.128. P.85–91. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2017.04.013>
5. Leem A.Y., Park B., Kim Y.S., Chang J., Won S., Jung J.Y. Longitudinal decline in lung function: a community-based cohort study in Korea // *Sci. Rep.* 2019. Vol.9, Iss.1. Article number: 13614. doi: 10.1038/s41598-019-49598-9
6. Thomas E.T., Guppy M., Straus S.E., Bell K.J.L., Glasziou P. Rate of normal lung function decline in ageing adults: a systematic review of prospective cohort studies // *BMJ Open.* 2019. Vol.9, Iss.6. Article number: e028150. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-028150>
7. Rosso A., Egervall K., Elmståhl S. Annual decline rate in FEV1s in community-dwelling older adults diagnosed with mild to moderate COPD // *NPJ Prim. Care Respir. Med.* 2022. Vol.32, Iss.1. Article number: 30. <https://doi.org/10.1038/s41533-022-00292-w>
8. Celli B.R., Anderson J.A., Cowans N.J., Crim C., Hartley B.F., Martinez F.J., Morris A.N., Quasny H., Yates J., Vestbo J., Calverley P.M.A. Pharmacotherapy and Lung Function Decline in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. A Systematic Review // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2021. Vol.203, Iss.6. P.689–698. <https://doi.org/10.1164/rccm.202005-1854OC>
9. Wu J., Zhao X., Xiao C., Xiong G., Ye X., Li L., Fang Y., Chen H., Yang W., Du X. The role of lung macrophages in chronic obstructive pulmonary disease // *Respir. Med.* 2022. Vol.205. Article number: 107035. doi: 10.1016/j.rmed.2022.107035
10. Наумов Д.Е., Сугайло И.Ю., Котова О.О., Гассан Д.А., Горчакова Я.Г., Мальцева Т.А. Сравнительная характеристика уровней экспрессии TRP каналов на макрофагах больных хронической обструктивной болезнью легких // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2022. Вып.85. С.37–46. EDN: SGGIYV. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2022-85-37-46>
11. Nguyen T.N., Siddiqui G., Veldhuis N.A., Poole D.P. Diverse Roles of TRPV4 in Macrophages: A Need for Unbiased Profiling // *Front. Immunol.* 2022. Vol.12. Article number: 828115. doi: 10.3389/fimmu.2021.828115
12. Sridharan R., Cavanagh B., Cameron A.R., Kelly D.J., O'Brien F.J. Material stiffness influences the polarization state, function and migration mode of macrophages // *Acta Biomater.* 2019. Vol.89. P.47–59. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.02.048>
13. Chen M., Zhang Y., Zhou P., Liu X., Zhao H., Zhou X., Gu Q., Li B., Zhu X., Shi Q. Substrate stiffness modulates bone marrow-derived macrophage polarization through NF- κ B signaling pathway // *Bioact. Mater.* 2020. Vol.5, Iss.4. P.880–890. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.05.004>
14. Ji C., McCulloch C.A. TRPV4 integrates matrix mechanosensing with Ca^{2+} signaling to regulate extracellular matrix remodeling // *FEBS J.* 2021. Vol.288, Iss.20. P.5867–5887. <https://doi.org/10.1111/febs.15665>
15. Sharma S., Goswami R., Zhang D.X., Rahaman S.O. TRPV4 regulates matrix stiffness and TGF β 1-induced epithelial-mesenchymal transition // *J. Cell. Mol. Med.* 2019. Vol.23, Iss.2. P.761–774. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13972>
16. Goswami R., Merth M., Sharma S., Alharbi M.O., Aranda-Espinoza H., Zhu X., Rahaman S.O. TRPV4 calcium-permeable channel is a novel regulator of oxidized LDL-induced macrophage foam cell formation // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. Vol.110. P.142–150. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.06.004>
17. Burgess J.K., Harmsen M.C. Chronic lung diseases: entangled in extracellular matrix // *Eur. Respir. Rev.* 2022. Vol.31, Iss.163. Article number: 210202. <https://doi.org/10.1183/16000617.0202-2021>
18. Barnes P.J. The cytokine network in chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2009. Vol.41, Iss.6. P.631–638. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0220TR>
19. Wei B., Sheng Li C. Changes in Th1/Th2-producing cytokines during acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease // *J. Int. Med. Res.* 2018. Vol.46, Iss.9. P.3890–3902. <https://doi.org/10.1177/0300060518781642>
20. Liu M., Wu K., Lin J., Xie Q., Liu Y., Huang Y., Zeng J., Yang Z., Wang Y., Dong S., Deng W., Yang M., Wu S., Jiang W., Li X. Emerging Biological Functions of IL-17A: A New Target in Chronic Obstructive Pulmonary Disease? // *Front. Pharmacol.* 2021. Vol.12. Article number: 695957. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.695957>
21. Ji X., Li J., Xu L., Wang W., Luo M., Luo S., Ma L., Li K., Gong S., He L., Zhang Z., Yang P., Zhou Z., Xiang X., Wang C.Y. IL4 and IL-17A provide a Th2/Th17-polarized inflammatory milieu in favor of TGF- β 1 to induce bronchial epithelial-mesenchymal transition (EMT) // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2013. Vol.6, Iss.8. P.1481–1492. PMID: 23923066; PMCID: PMC3726963.
22. Su X., Wu W., Zhu Z., Lin X., Zeng Y. The effects of epithelial-mesenchymal transitions in COPD induced by cigarette smoke: an update // *Respir. Res.* 2022. Vol.23, Iss.1. Article number: 225. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02153-z>
23. Jing H., Liu L., Zhou J., Yao H. Inhibition of C-X-C Motif Chemokine 10 (CXCL10) Protects Mice from Cigarette Smoke-Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease // *Med. Sci. Monit.* 2018. Vol.24. P.5748–5753. <https://doi.org/10.12659/MSM.909864>
24. Di Stefano A., Coccini T., Roda E., Signorini C., Balbi B., Brunetti G., Ceriana P. Blood MCP-1 levels are increased in chronic obstructive pulmonary disease patients with prevalent emphysema // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018.

Vol.13. P.1691–1700. <https://doi.org/10.2147/COPD.S159915>

REFERENCES

1. Gutiérrez Villegas C., Paz-Zulueta M., Herrero-Montes M., Parás-Bravo P., Madrazo Pérez M. Cost analysis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): a systematic review. *Health Econ. Rev.* 2021; 11(1):31. <https://doi.org/10.1186/s13561-021-00329-9>
2. Tantucci C., Modina D. Lung function decline in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2012; 7:95–99. <https://doi.org/10.2147/COPD.S27480>
3. Whittaker H.R., Pimenta J.M., Jarvis D., Kiddle S.J., Quint J.K. Characteristics Associated with Accelerated Lung Function Decline in a Primary Care Population with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2020; 15:3079–3091. <https://doi.org/10.2147/COPD.S278981>
4. Halpin D.M.G., Decramer M., Celli B.R., Mueller A., Metzdorf N., Tashkin D.P. Effect of a single exacerbation on decline in lung function in COPD. *Respir. Med.* 2017; 128:85–91. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2017.04.013>
5. Leem A.Y., Park B., Kim Y.S., Chang J., Won S., Jung J.Y. Longitudinal decline in lung function: a community-based cohort study in Korea. *Sci. Rep.* 2019; 9(1):13614. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49598-9>
6. Thomas E.T., Guppy M., Straus S.E., Bell K.J.L., Glasziou P. Rate of normal lung function decline in ageing adults: a systematic review of prospective cohort studies. *BMJ Open* 2019; 9(6):e028150. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-028150>
7. Rosso A., Egervall K., Elmståhl S. Annual decline rate in FEV1s in community-dwelling older adults diagnosed with mild to moderate COPD. *NPJ Prim. Care Respir. Med.* 2022; 32(1):30. <https://doi.org/10.1038/s41533-022-00292-w>
8. Celli B.R., Anderson J.A., Cowans N.J., Crim C., Hartley B.F., Martinez F.J., Morris A.N., Quasny H., Yates J., Vestbo J., Calverley P.M.A. Pharmacotherapy and Lung Function Decline in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. A Systematic Review. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2021; 203(6):689–698. <https://doi.org/10.1164/rccm.202005-1854OC>
9. Wu J., Zhao X., Xiao C., Xiong G., Ye X., Li L., Fang Y., Chen H., Yang W., Du X. The role of lung macrophages in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.* 2022; 205:107035. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2022.107035>
10. Naumov D.E., Sugaylo I.Yu., Kotova O.O., Gassan D.A., Gorchakova Y.G., Maltseva T.A. [Comparative characteristics of TRP channels expression levels on the macrophages of patients with chronic obstructive pulmonary disease]. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (85):37–46 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2022-85-37-46>
11. Nguyen T.N., Siddiqui G., Veldhuis N.A., Poole D.P. Diverse Roles of TRPV4 in Macrophages: A Need for Unbiased Profiling. *Front. Immunol.* 2022; 12:828115. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.828115>
12. Sridharan R., Cavanagh B., Cameron A.R., Kelly D.J., O'Brien F.J. Material stiffness influences the polarization state, function and migration mode of macrophages. *Acta Biomater.* 2019; 89:47–59. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.02.048>
13. Chen M., Zhang Y., Zhou P., Liu X., Zhao H., Zhou X., Gu Q., Li B., Zhu X., Shi Q. Substrate stiffness modulates bone marrow-derived macrophage polarization through NF- κ B signaling pathway. *Bioact. Mater.* 2020; 5(4):880–890. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.05.004>
14. Ji C., McCulloch C.A. TRPV4 integrates matrix mechanosensing with Ca²⁺ signaling to regulate extracellular matrix remodeling. *FEBS J.* 2021; 288(20):5867–5887. <https://doi.org/10.1111/febs.15665>
15. Sharma S., Goswami R., Zhang D.X., Rahaman S.O. TRPV4 regulates matrix stiffness and TGF β 1-induced epithelial-mesenchymal transition. *J. Cell. Mol. Med.* 2019; 23(2):761–774. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13972>
16. Goswami R., Merth M., Sharma S., Alharbi M.O., Aranda-Espinoza H., Zhu X., Rahaman S.O. TRPV4 calcium-permeable channel is a novel regulator of oxidized LDL-induced macrophage foam cell formation. *Free Radic. Biol. Med.* 2017; 110:142–150. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.06.004>
17. Burgess J.K., Harmsen M.C. Chronic lung diseases: entangled in extracellular matrix. *Eur. Respir. Rev.* 2022; 31(163):210202. <https://doi.org/10.1183/16000617.0202-2021>
18. Barnes P.J. The cytokine network in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2009; 41(6):631–638. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2009-0220TR>
19. Wei B., Sheng Li C. Changes in Th1/Th2-producing cytokines during acute exacerbation chronic obstructive pulmonary disease. *J. Int. Med. Res.* 2018; 46(9):3890–3902. <https://doi.org/10.1177/0300060518781642>
20. Liu M., Wu K., Lin J., Xie Q., Liu Y., Huang Y., Zeng J., Yang Z., Wang Y., Dong S., Deng W., Yang M., Wu S., Jiang W., Li X. Emerging Biological Functions of IL-17A: A New Target in Chronic Obstructive Pulmonary Disease? *Front. Pharmacol.* 2021; 12:695957. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.695957>
21. Ji X., Li J., Xu L., Wang W., Luo M., Luo S., Ma L., Li K., Gong S., He L., Zhang Z., Yang P., Zhou Z., Xiang X., Wang C.Y. IL4 and IL-17A provide a Th2/Th17-polarized inflammatory milieu in favor of TGF- β 1 to induce bronchial

epithelial-mesenchymal transition (EMT). *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2013; 6(8):1481–1492. PMID: 23923066; PMCID: PMC3726963.

22. Su X., Wu W., Zhu Z., Lin X., Zeng Y. The effects of epithelial-mesenchymal transitions in COPD induced by cigarette smoke: an update. *Respir. Res.* 2022; 23(1):225. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02153-z>

23. Jing H., Liu L., Zhou J., Yao H. Inhibition of C-X-C Motif Chemokine 10 (CXCL10) Protects Mice from Cigarette Smoke-Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24:5748–5753. <https://doi.org/10.12659/MSM.909864>

24. Di Stefano A., Coccini T., Roda E., Signorini C., Balbi B., Brunetti G., Ceriana P. Blood MCP-1 levels are increased in chronic obstructive pulmonary disease patients with prevalent emphysema. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018; 13:1691–1700. <https://doi.org/10.2147/COPD.S159915>

Информация об авторах:

Денис Евгеньевич Наумов, канд. мед. наук, зав. лабораторией, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: denn1985@bk.ru

Ивана Юрьевна Сугайло, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Дина Анатольевна Гассан, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dani-shi@mail.ru

Олеся Олеговна Котова, канд. мед. наук, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Яна Геннадьевна Горчакова, лаборант-исследователь, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

Елизавета Григорьевна Шелудко, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: liza.sheludko@mail.ru

Author information:

Denis E. Naumov, PhD (Med.), Head of Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: denn1985@bk.ru

Ivana Yu. Sugaylo, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Dina A. Gassan, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dani-shi@mail.ru

Olesya O. Kotova, PhD (Med.), Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Yana G. Gorchakova, Research Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

Elizaveta G. Sheludko, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: liza.sheludko@mail.ru

Поступила 01.11.2022
Принята к печати 15.11.2022

Received November 01, 2022
Accepted November 15, 2022