

УДК 616.233-021.5:612.225(612.112.3/91:57.083.3)]616.248

DOI: 10.36604/1998-5029-2023-87-42-51

РОЛЬ МАКРОФАГОВ, МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ, ИНТЕРЛЕЙКИНОВ IL-12, IL-13 ПРИ ФОРМИРОВАНИИ РЕАКЦИИ БРОНХОВ НА ГИПЕРОСМОЛЯРНЫЙ СТИМУЛ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

А.Б.Пирогов, А.Г.Приходько

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Участие макрофагов в реализации оксидативного / галогенирующего стресса и роль макрофагальных популяций в поддержании баланса Th1/Th2 цитокинов у больных бронхиальной астмой (БА) с осмотическими видами гиперреактивности бронхов недостаточно исследованы. **Цель.** Изучить роль макрофагов, миелопероксидазы (МПО), IL-12, IL-13 при формировании реакции бронхов на воздействие гиперосмолярного триггера у больных БА. **Материалы и методы.** Объект исследования – больные БА (n=35). Оценивали уровень контроля над болезнью (Asthma Control Test, баллы), клеточный состав (%) и МПО (пиксель) индуцированной мокроты (ИМ), реакцию бронхов ($\Delta\text{ОФВ}_{\text{ИГР}}$, %) после 3-минутной ультразвуковой ингаляции гипертонического (4,5% NaCl) раствора (ИГР). До и после пробы ИГР осуществляли сбор конденсата выдыхаемого воздуха, в котором определяли концентрацию IL-12, IL-13 (пг/мл). **Результаты.** Больные БА не контролировали заболевание, АСТ составил 14 (11; 16,5) баллов. В 1 группу (n=15) вошли лица с бронхиальной гиперреактивностью на пробу ИГР, во 2 группу (n=20) – больные с отсутствием таковой ($\Delta\text{ОФВ}_{\text{ИГР}}$ -19,8±1,9 и -1,43±0,72%, соответственно, $p<0,001$). Базовый ОФВ_1 в 1 и 2 группах составил 89,5±2,8 и 93,7±2,3%, соответственно ($p>0,05$). Процентное содержание макрофагов мокроты в 1 группе было более низким (40 [15,95; 50,75]), а показатели среднего цитохимического коэффициента в фагоцитах – более высокими (141,4±9,7), чем во 2 группе (50 [42,5; 63,6]; $p=0,039$ и $98,8\pm12,3$; $p=0,013$, соответственно). В инициации воспаления и гиперреактивности дыхательных путей (ДП) к гиперосмолярному стимулу экспрессия IL-12 оценивалась как более значимая по сравнению с экспрессией IL-13. **Заключение.** Более низкое содержание макрофагов в бронхах больных БА с гиперреактивностью ДП на гиперосмолярный стимул вероятнее всего обусловлено усилением секреторной функции клеток. Высокий уровень активности МПО у этих больных зависел от пероксидазной функции секретирующих макрофагов, связан с M1 поляризацией макрофагов, свидетельствовал о Th1 иммунном ответе, ассоциированным с участием IL-12 в регуляции гиперреактивности ДП на гипертонический триггер.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гиперреактивность дыхательных путей, бронхопровокация, гипертонический раствор, индуцированная мокрота, M1 и M2 макрофаги, миелопероксидаза фагоцитов, цитокины IL-12 и IL-13, Th1 и Th2 иммунный ответ.

THE ROLE OF MACROPHAGES, MYELOPEROXIDASE, INTERLEUKINS IL-12, IL-13 IN THE FORMATION OF BRONCHIAL RESPONSE TO HYPEROSMOLAR STIMULUS IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

A.B.Pirogov, A.G.Prikhodko

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

SUMMARY. Introduction. The involvement of macrophages in the realization of oxidative / halogenating stress and

Контактная информация

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Correspondence should be addressed to

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, 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: dncfpd@dncfpd.ru

Для цитирования:

Пирогов А.Б., Приходько А.Г. Роль макрофагов, миелопероксидазы, интерлейкинов IL-12, IL-13 при формировании реакции бронхов на гиперосмолярный стимул у больных бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2023. Вып.87. С.42–51. DOI: 10.36604/1998-5029-2023-87-42-51

For citation:

Pirogov A.B., Prikhodko A.G. The role of macrophages, myeloperoxidase, interleukins IL-12, IL-13 in the formation of bronchial response to hyperosmolar stimulus in patients with bronchial asthma. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2023; (87):42–51 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2023-87-42-51

the role of macrophage populations in maintaining the balance of Th1/Th2 cytokines in patients with asthma with osmotic types of bronchial hyperresponsiveness has not been sufficiently studied. **Aim.** To study the role of macrophages, myeloperoxidase (MPO), IL-12, IL-13 in the formation of the bronchial response to the hyperosmolar trigger in patients with asthma. **Materials and methods.** The object of the study was asthma patients (n=35). The level of asthma control (Asthma Control Test, points), cellular composition (%) and MPO (pixel) of induced sputum (IS), bronchial response (ΔFEV_{IHS} , %) after 3-minute ultrasonic inhalation of hypertonic (4.5% NaCl) solution (IHS) were assessed. Before and after the IHS test, exhaled air condensate was collected, in which the concentration of IL-12, IL-13 (pg/mL) was determined. **Results.** Patients with asthma did not control the disease, ACT was 14 (11; 16.5) points. Group 1 (n=15) included individuals with bronchial hyperresponsiveness to the IHS, group 2 (n=20) included patients with lack of it (ΔFEV_{IHS} -19.8±1.9 and -1.43±0.72%, respectively, $p<0.001$). Baseline FEV_1 in groups 1 and 2 was 89.5±2.8 and 93.7±2.3%, respectively ($p>0.05$). The percentage of sputum macrophages in group 1 was lower (40 [15.95; 50.75]%), and the average cytochemical coefficient in phagocytes was higher (141.4±9.7) than in group 2 (50 [42.5; 63.6]; $p=0.039$ and 98.8±12.3; $p=0.013$, respectively). IL-12 expression was to be more significant than IL-13 expression in the initiation of airway inflammation and hyperresponsiveness to hyperosmolar stimulus. **Conclusion.** The lower concentration of macrophages in the bronchi of asthma patients with airway hyperresponsiveness to hyperosmolar stimulus is most likely due to an increase in the secretory function of cells. A high level of MPO activity in these patients depended on the peroxidase function of secreting macrophages, was associated with M1 polarization of macrophages, and indicated a Th1 immune response associated with the participation of IL-12 in the regulation of airway hyperresponsiveness to a hypertonic trigger.

Key words: bronchial asthma, airway hyperresponsiveness, bronchial provocation, hypertonic solution, induced sputum, M1 and M2 macrophages, phagocyte myeloperoxidase, cytokines IL-12 and IL-13, Th1 and Th2 immune response.

В традиционном представлении бронхиальная астма (БА) ассоциируется преимущественно с Th2 иммунным ответом, альтернативным классическому M2-пути активации и M2-поляризации макрофагов, координируемых IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13 [1–4]. M2 макрофаги дыхательных путей больных БА характеризуются пониженной способностью к фагоцитозу, стимуляцией аллергического воспаления за счёт продукции Th2-цитокинов, амплифицирующих Th2-ответ (аутокринный тип регуляции), и ремоделирования бронхов за счёт экспрессии факторов фибро- и коллагеногенеза [2, 4]. Макрофаги подтипа M2a обладают способностью к усиленной экспрессии IL-13, ключевого цитокина в патогенезе аллергической БА, центрального регулятора синтеза IgE, гиперплазии бокаловидных клеток, гиперсекреции слизи, индуктора субэпителиального фиброза, активации эозинофилов и бронхиальной гиперреактивности [2, 5–9].

Неаллергические формы астмы, утяжеление клинических проявлений, частые обострения, резистентность к терапии глюкокортикостероидами, прогрессирование и неконтролируемое течение болезни сопровождаются развитием Th1/Th17 иммунного ответа, увеличением уровня провоспалительных цитокинов, активирующих каскад воспалительных реакций, и M1-фенотипом макрофагов [2, 3, 10]. Активация M1 макрофагов стимулируется IFN- γ [1–3, 10–12], поляризующим иммунный ответ по Th1-типу, повышающим дифференцировку наивных CD4+Th0 в T-клетки воспаления CD4+Th1, супрессирующим Th2 популяцию в совокупности со стимуляцией процесса антигенов и экспрессией поверхностных коstimулирующих молекул на антигенпрезентирующих клетках (АПК) [13–15]. Основным индуктором транскрипции гена IFN- γ , потенцирующим Th1 иммунный ответ, выступает иммунорегуляторный IL-12, выделяе-

мый активированными мононуклеарными фагоцитами и АПК, включающий в своем семействе IL-23, IL-27, IL-35 и состоящий из двух ковалентно связанных субъединиц IL-12p35 и IL-12p40 (образующих IL-12p70), одна из которых, субъединица p40, участвует в патогенезе БА [16, 17]. Интегрируясь в Th1-ответ, M1-фенотип макрофагов интенсивно продуцирует IL-1 β , IL-8, RANTES (CCL5), IL-12, IL-15, IL-18, IL-23p40/p19, TNF α , большое количество IFN- γ индуцируемого протеина IP10 (CXCL10), воспалительного белка макрофагов MIP1 α , а также NO (за счет стимуляции активности iNOS) и ROS [1–3, 10–12], иницируя тем самым типичные для заболеваний органов дыхания, в том числе и для БА, реакции оксидативного стресса [18].

При взаимодействии с пероксидом водорода H₂O₂, образующегося при респираторном взрыве и активно секретируемого макрофагами во внеклеточную среду [18], локализованный в азурофильных гранулах нейтрофилов и макрофагов фермент миелопероксидаза (МПО) участвует в синтезе высоко-реакционноспособных галогенсодержащих соединений – активных форм галогенов (АФГ), конвертируя оксидативный стресс в галогенирующий [19, 20].

В связи с отсутствием данных о роли макрофагов в реализации оксидативного/галогенирующего стресса и о поддержании макрофагальными популяциями баланса Th1/Th2 цитокинов у больных БА с осмотическими видами гиперреактивности бронхов, была предпринята настоящая работа, целью которой являлась изучение роли макрофагов, МПО, IL-12, IL-13 при формировании реакции бронхов на воздействие гиперосмолярного триггера у больных БА.

Материалы и методы исследования

Объект исследования – пациенты (n=35) обоего

пола, с диагнозом БА неаллергического фенотипа, среднетяжелой и легкой формы (критерии GINA, 2018) [21], средний возраст $38,6 \pm 1,6$ лет. Основными критериями отбора больных служили: возраст старше 18 лет, ОФВ₁ при спирометрическом тестировании более 70% должной величины на момент обследования, отсутствие абсолютных и относительных противопоказаний для проведения бронхопровокационных проб [22], подписанное информированное согласие. Исследование одобрено локальным Комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД и проведено с соблюдением требований Хельсинкской декларации (2013).

Стандартное обследование включало объективизацию клинических симптомов БА с оценкой уровня контроля заболевания по данным валидизированного вопросника Asthma Control Test (АСТ, Quality Metric Inc., 2002), оценку базовой вентиляционной функции легких (ОФВ₁/ЖЕЛ, ОФВ₁, СОС₂₅₋₇₅) с последующим определением реакции бронхов (Δ ОФВ_{1s}) на ингаляцию β_2 -агонистом короткого действия (Salbutamol, 400mg). Дополнительно, в режиме 2-х дней всем больным осуществлялся забор индуцированной мокроты (ИМ), выполнялась бронхопровокационная проба 3-минутной ультразвуковой ингаляцией гипертонического (4,5% NaCl) раствора (ИГР) [23] со сбором конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) перед и после проведенной бронхопровокации. Для всех пациентов процедура забора биологического материала была стандартизована по времени и последовательности выполнения.

Для изучения функции внешнего дыхания использовался спирометр Easy on-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария). Проба ИГР [23] проводилась под спирометрическим контролем с оценкой исходных параметров бронхиальной проходимости и в восстановительном периоде после выполненной провокации на 1-й и 5-й минутах. Основным критерием для постановки диагноза «гиперреактивность дыхательных путей» служило снижение ОФВ₁ (Δ ,%) после ингаляции 4,5% NaCl более, чем на 10% от исходной величины [23].

Для производства аэрозоля при проведении бронхопровокационной пробы ИГР и для индукции солевых растворов при сборе мокроты использовали ультразвуковой ингалятор Вулкан-3 (ОАО «Утес», Россия).

Индукция мокроты осуществлялась ингаляцией 3%, 4% и 5% раствора хлорида натрия сеансами по 7 минут, с измерением параметра ОФВ₁. При падении ОФВ₁ более 10% от исходного значения и получении удовлетворительного образца мокроты ингаляцию прекращали. Цитологическое исследование мокроты проводили не позднее, чем в течение 2 часов после ее получения. Мазки изготавливали стандартным методом и изучали при помощи светооптической иммерсионной микроскопии, с подсчетом не менее 400 клеток в 100 полях зрения, в центральных и перифери-

ческих частях препарата, в соответствии с общепринятой методикой [24]. Подсчитанное в цитологических мазках число клеточных элементов выражали в процентах от общего числа клеток. Цитохимическое определение совокупной активности МПО в азурофильных гранулах фагоцитов (макрофагов и нейтрофилов) ИМ проводили с помощью метода Грэхема-Кнолля [25] с докраской мазков после обработки бензидином и перекисью водорода водным раствором азура-2. Для цифровой обработки изображений клеток использовали компьютерные программы Image Tool и Optika Vision Pro (Италия), Mac Biophotonics Image S (США). На основании данных, полученных с помощью программы для микроденситрии, по оптической плотности фермента в исследуемых клетках рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) МПО (пиксель).

Сбор образцов твердой фракции выдыхаемой газовой смеси осуществляли на аппарате ECoScreen Turbo (VIASUS Healthcare GmbH, Германия) в течение 20 мин. при спокойном дыхании, носовое дыхание исключалось путем наложения носового зажима [23]. Выдыхаемые пары конденсировались в охлаждающей камере при температуре -20°C . Контроль температуры осуществлялся автоматически и отображался на панели прибора в режиме реального времени. После завершения процедуры и оттаивания, жидкий КВВ аликвотировали в полипропиленовые пробирки объемом 1,5 мл, замораживали и хранили при температуре -80°C до момента анализа. Перед анализом производили концентрирование образцов в 15 раз с помощью вакуумного концентратора Savant SpeedVac SPD120P2 (Thermo Fisher Scientific, США). Измерение концентрации IL-12 и IL-13 в КВВ (пг/мл) проводили методом мультиплексного анализа с использованием наборов LEGENDplex HU Essential Immune Response Panel (BioLegend, США) на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto II (BD, США) согласно протоколу производителя.

Статистический анализ полученного материала производился на основе стандартных методов вариационной статистики. Для определения достоверности различий использовали парный метод и непарный критерий t (Стьюдента), при распределении негауссовом, применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Количественные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего, а также медианы и квартилей ($Me [Q_1; Q_3]$). С целью определения степени связи между 2 случайными величинами использовали классический корреляционный анализ по Пирсону и непараметрический по Спирмену. В качестве критического уровня значимости (p) принималось значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Все обследуемые больные имели низкий контроль над астмой (менее 19 баллов) по АСТ, который составил 14 (11; 16,5) баллов. Дальнейшее распределение

больных в группы осуществлялось по типам реакции дыхательных путей на бронхопровокацию гипертоническим раствором: в 1 группу (n=15) вошли лица с бронхиальной гиперреактивностью на стимул, во 2 группу (n=20) – больные с отсутствием таковой ($\Delta\text{ОФВ}_{\text{ИГР}}$ -19,8±1,9 и -1,43±0,72%, $p<0,001$, соответственно). По результатам анализа базовых параметров

спирометрии, больные с гиперреактивностью на ИГР имели более низкое среднее значение СОС_{25-75} , отражающее проходимость бронхов на периферическом уровне (табл. 1). В обеих группах у больных наблюдалась высокая лабильность бронхов в ответ на введение 400 мг сальбутамола.

Таблица 1

Вентиляционная функция легких и реакция дыхательных путей на сальбутамол у больных БА

Показатели	1 группа	2 группа	p
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %	71,0±1,5	73,3±1,0	>0,05
ОФВ ₁ , % долж.	89,5±2,8	93,7±2,3	>0,05
СОС ₂₅₋₇₅ , % долж.	58,1±3,6	71,1±3,6	0,017
$\Delta\text{ОФВ}_{1\text{с}}$, %	14,9±2,2	15,6±2,3	>0,05

Процентное содержание макрофагов мокроты в 1 группе было более низким, а показатель СЦК МПО в фагоцитах – более высоким, чем во 2 группе. Содержание нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов у пациентов 1 и 2 групп достоверно не различались (табл. 2). В обеих группах число макрофагов тесно коррели-

ровало с количеством нейтрофилов мокроты ($R_s=-0,67$; $p=0,006$ и $R_s=-0,69$; $p=0,004$), однако только у больных с гиперреактивностью бронхов на ИГР снижение содержания макрофагов в мокроте сопровождалось значимым увеличением активности МПО ($R_s=-0,79$; $p=0,007$).

Таблица 2

Клеточный состав, активность МПО в макрофагах и нейтрофилах мокроты больных БА

Показатели	1 группа	2 группа	p
Нейтрофилы, %	36 (22; 53)	20,4 (16,6; 38,5)	>0,05
Макрофаги, %	40 (15,95; 50,75)	50 (42,5; 63,6)	0,039
Эозинофилы, %	10 (20; 34,3)	10 (2,1; 18,5)	>0,05
Лимфоциты, %	1 (0,5; 2,2)	3 (1; 5)	>0,05
СЦК МПО, пиксели	141,4±9,7	98,8±12,3	0,013

Концентрация IL-13 в КВВ пациентов в ответ на пробу ИГР уменьшалась в 1 группе и не изменялась во 2 группе. Показатели уровня IL-12 в обеих группах в ответ на пробу ИГР снижались – с большей степенью выраженности в 1 группе и с меньшей степенью выраженности во 2 группе (табл. 3). Снижение уровней IL-13 и IL-12 в результате положительной реакции

дыхательных путей на воздействие гиперосмолярного стимула с наибольшей вероятностью могло быть обусловлено усиленной утилизацией интерлейкинов, свидетельствующей об участии в процессе бронхоспазма как Th2, так и Th1 цитокинов и о сопоставимости Th1 и Th2 иммунных ответов в развитии осмотической гиперреактивности бронхов.

Таблица 3

Концентрация IL-13 и IL-12 в конденсате выдыхаемого воздуха у больных БА до и после пробы ИГР

Показатель	IL-13 (пг/мл)		IL-12 (пг/мл)		p	p ₁
	до пробы	после пробы	до пробы	после пробы		
1 группа	2,1±0,30	1,34±0,20*	3,02 (2,86; 3,4)	2,08 (2,0; 2,3)**	>0,05	>0,05
2 группа	1,6±0,32	1,47±0,23	2,95 (2,83; 3,13)	2,22 (2,05; 2,68)*	>0,05	>0,05

Примечание: p – значимость межгрупповых различий базовых показателей; p₁ – значимость межгрупповых различий после пробы ИГР; * – значимость различий показателя до и после пробы ИГР (* – $p<0,05$, ** – $p<0,001$).

Оценивая характер взаимодействия IL-12 и IL-13 в дыхательных путях больных БА под влиянием гиперосмолярного стимула, уместно напомнить о способности IL-13 индуцировать гиперреактивность бронхов путем стимуляции экспрессии и секреции в бронхиальном эпителии фактора хемотаксиса моноцитов, существенного для формирования гиперреактивности, а также путем непосредственной передачи сигнала на эпителиальные клетки и лейомиоциты [5, 7]. При активации сигнальных каскадов реакций, ассоциированных с IL-13 и/или IL-4, реализуется типичный для БА сдвиг иммунного ответа в сторону Th2. После связывания IL-13/IL-4 с трансмембранными рецепторами происходит активация с внутренней стороны мембраны сигнальных трансдукторов – Янус-киназ JAK1, JAK3 и TYK2 (рецепторный комплекс IL-13R α 1 связан с TYK2), которые фосфорилируют неактивный STAT6-мономер, превращая его в активный фактор транскрипции pSTAT6-димер, транслоцирующийся в ядро [7, 26, 27]. Активный pSTAT6-димер индуцирует экспрессию фактора транскрипции Th2 GATA-3, активирующего секрецию Th2 цитокинов, ингибирующего специфичные факторы транскрипции Th1 типа, обуславливающего аллергическое воспаление и такие компоненты астмы, как гиперреактивность и ремоделирование бронхов [28, 29].

Ключевая роль IL-12 заключается в индукции экспрессии IFN- γ и дифференцировки CD4⁺Th0 в Т-хелперы 1 типа [13, 14, 16, 17]. Молекулярные механизмы, регулирующие дифференцировку Th1, объединяют связанные сигнальные пути IL-12 / STAT4 и IFN- γ / STAT1, активируемые IL-12 и IFN- γ [28]. После связывания IL-12p40 и IL-12p35 с рецепторами IL-12R β 1 и IL-12R β 2, соответственно, активируются Янус-киназы TYK2 и JAK2, что приводит к фосфорилированию IL-12R β 2, который становится сайтом связывания белка STAT4. После рекрутирования к рецептору STAT4 фосфорилируется киназами JAK и димеризуется с другой молекулой STAT4. Гомодимеры STAT4 перемещаются в ядро и способствуют транскрипции гена IFN- γ [17]. В сигналинге с участием STAT1, активируемом IFN- γ , при связывании IFN- γ с рецептором IFN- γ R и запуске внутриклеточной сигнализации, активированные Янус-киназы JAK1 и JAK2 (JAK1 взаимодействует с IFN- γ R1 субъединицей рецептора, JAK2 – с субъединицей IFN- γ R2) фосфорилируют латентный STAT1, который, димеризуясь, становится активным. Активные STAT1 гомодимеры транслоцируются в ядро, где связываются с промоторными элементами сайта активации IFN- γ (GAS) и инициируют транскрипцию генов, регулируемых IFN- γ [13, 15].

С сигнальным путем IFN- γ / STAT1 (путь T-bet) в процессе генерации Th1 связывают важнейшее противодействие экспрессии и/или функции GATA-3, супрессирующей дифференцировку клеток CD4⁺Th1 [28]. Ввиду того, что GATA-3 блокирует активатор транскрипции Th1 STAT4, поддержание экспрессии

STAT4 со стороны T-bet, ингибирующего экспрессию и/или функцию GATA-3, состоит в устранении влияния GATA-3 на STAT4 и подавлении дифференцировки Th2 [28]. Следовательно, T-bet обладает способностью потенцировать сигналы STAT4 в развитии Th1. Так, IL-12-индуцированный IFN- γ участвует в положительной обратной связи, стимулирует в макрофагах синтез IL-12, инициирует и стабилизирует ответ Th1 и препятствует секреции цитокинов Th2 [13]. Среди последних ингибиторами продукции IFN- γ называются IL-5, IL-10, IL-13, но приоритетное значение придается IL-4, подавляющему IFN- γ -зависимую активацию эффекторных функций макрофагов [13–15]. В свою очередь, IFN- γ ингибирует секрецию IL-4 в Th2 и противодействует в макрофагах зависимой от IL-4 индукции низкоаффинного рецептора к IgE Fc ϵ RII [13]. IL-12 и IFN- γ индуцируют активность и пролиферацию макрофагов, NK-клеток и Т-клеток, секретирующих IL-12 [17].

У больных с гиперреактивностью бронхов на гиперосмолярный стимул после пробы наблюдалось более интенсивное снижение концентрации IL-12, по сравнению с IL-13, что соответствовало преобладанию утилизации в дыхательных путях IL-12 и, на фоне мобилизации активности IL-12, большей подвижности Th1- и большей инертности Th2 ответа в реализации бронхоспазма. Изменение концентрации IL-12 после пробы ИГР происходило и у пациентов 2 группы, что свидетельствовало об активности IL-12 как движущей силы эскалации воспаления, лежащего в основе клинико-функциональных проявлений болезни, характерного для обеих групп. Это характеризовалось неконтролируемым течением болезни, вероятнее всего недостаточным объемом получаемой базисной терапии, не в полной мере корригирующей провоспалительное влияние IL-12-зависимых Th1 цитокинов. Поскольку активность IL-12 тесно взаимосвязана с активацией M1 макрофагов и индукцией IFN- γ , в эскалации воспаления и формировании гиперреактивности бронхов на гиперосмолярный триггер прослеживается роль IFN- γ , что согласуется с данными, полученными нами ранее при изучении регуляции цитокинами холодовой гиперреактивности дыхательных путей [30]. Где было показано, что в развитии реакции дыхательных путей на холодовой стимул у больных астмой функциональная активность Th2 цитокинов по сравнению с активностью Th1 цитокинов снижена, в Th1 иммунном ответе доминирует IFN- γ [30].

Считается, что контролируемая IL-12 продукция IFN- γ моноцитами / макрофагами как профессиональными АПК имеет значение для самоактивации макрофагов и активации близлежащих клеток. Активирующее воздействие IFN- γ на макрофаги направлено на стимуляцию путей процессинга и презентации антигена, микробицидных / противоопухолевых эффекторных функций (за счет синтеза индуцируемой NO-синтазы (iNOS) и индукции цитозольных компонентов NADPH-оксидазы фагоцитов), секрецию

провоспалительных цитокинов и высвобождение токсических метаболитов [13, 15]. Индуцируя NADPH-зависимую фагоцитарную оксидазу, IFN- γ участвует в прайминге респираторного взрыва, а также стимулирует синтез NO, истощение запасов триптофана и активацию ферментов лизосом [13].

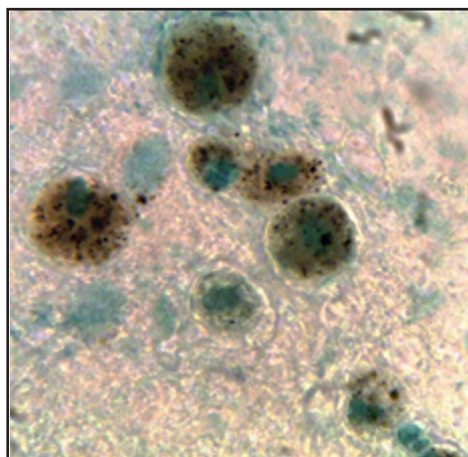
Первичным механизмом IFN- γ -индуцированной продукции ROS в фагоцитах является транскрипционная индукция мембранной α -субъединицы gp91phox и цитозольного компонента p47phox NADPH-оксидазы, многокомпонентной ферментной системы, способной окислять восстановленный NADPH и передислоцировать электроны с NADPH на молекулярный кислород [13, 31]. NADPH-зависимое восстановление кислорода до супероксид-аниона $O_2^{\cdot-}$ в процессе респираторного взрыва сопровождается перемещением цитозольных компонентов NADPH-оксидазы к мембране с образованием в фаголизосомах активного комплекса, генерирующего супероксид за счет переноса транспортируемого электрона на молекулярный кислород [13]. Супероксидный анион спонтанно или под действием СОД подвергается дисмутации с образованием супероксид аниона $O_2^{\cdot-}$ или пероксида водорода H_2O_2 , важнейшей активной формы хлора – хлорноватистой кислоты HOCl, в образовании которой с расходом H_2O_2 участвует активируемая IFN- γ МПО, высокотоксичного гидроксильного радикала $HO\cdot$, образующегося в реакции HOCl с супероксидным анион-радикалом $\cdot O_2^-$ [13, 19, 32].

Полученные в исследовании более высокие значения СЦК МПО в нейтрофилах и макрофагах мокроты больных с гиперреактивностью бронхов на пробу ИГР, подтверждали сопряженность гиперреактивности с усиленной генерацией фагоцитарной МПО, возникающим при бронхоспазме потребностям в активации респираторного взрыва, синтезе токсичных оксидантов и функционировании чрезвычайно токсичной системы «пероксид водорода H_2O_2 – МПО – галогены / АФГ».

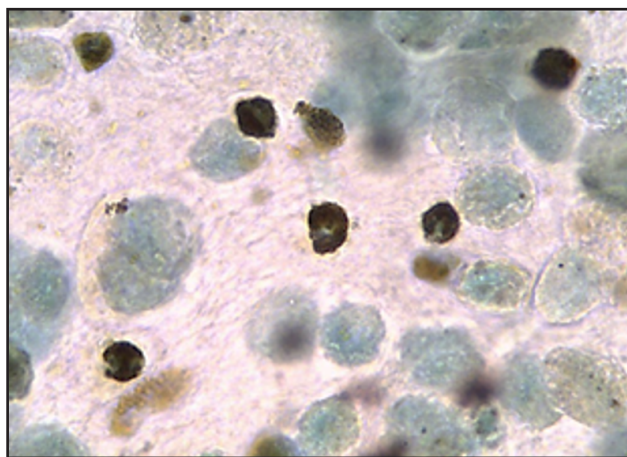
В мазках мокроты больных с гиперреактивностью дыхательных путей на гиперосмолярный стимул наблюдалось плотное диффузное расположение в цитоплазматических гранулах нейтрофилов и макрофагов окрашенной в коричнево-черной цвет зернистости – продукта реакции окисления пероксидазой бензидина (рис. А), что свидетельствовало о высокой активности МПО, интенсивно продуцируемой, приобретающей реакционную способность и аккумулируемой в лизосомах. Из-за компактного расположения гранул цитоплазма нейтрофилов таких пациентов заполнялась

либо интенсивно окрашенным диффузно-зернистым материалом, маскирующим или неполностью маскирующим ядерные сегменты, либо приобретала однородную черную окраску, при которой сливные глыбки бензидина, окисленного МПО, затрудняли обнаружение клеточного ядра (рис. Б). Явления дегрануляции и экзоцитоза пероксидазо-позитивных гранул в фагоцитах (рис. А, Б) отражали транспорт в межклеточную среду МПО и АФГ (высоко-реактогенной цитотоксичной HOCl и других гипогалоидных кислот, свободных радикалов), сопровождавшийся более выраженным в макрофагах, чем в нейтрофилах, снижением содержания лизосомных гранул, в которых депонировался и активировался фермент. Потеря пероксидазы за счет форсированной секреции вызывала отрицательную реакцию на МПО в макрофагах и являлась следствием лабильности мембран лизосом, что приводило к деградации, фрагментации и лизису цитоплазмы, а затем и ядра клеток, высокой частоте встречаемости в микропрепаратах лизированных мононуклеаров (рис. Б). Именно с усиленным цитолизом могли быть связаны наиболее низкие показатели количества макрофагов в ИМ пациентов 1 группы.

Несмотря на то, что МПО в лизосомах макрофагов синтезируется в меньших количествах, чем в азурофильных гранулах нейтрофилов, допустимо предположить, что высокая активность МПО, обнаруженная у больных БА с гиперреактивностью дыхательных путей к гиперосмолярному стимулу, была обусловлена не только активностью пероксидазы в нейтрофилах, содержание которых не отличалось от содержания нейтрофилов в бронхах пациентов с отсутствием гиперреактивности, но и пероксидазной функцией макрофагов, секретирующих МПО в интерстиций бронхов при дегрануляции и цитолизе. Наиболее вероятно поляризация таких макрофагов по M1 фенотипу, связанному с интенсификацией кислородного взрыва и МПО/АФГ-индуцированным оксидативным стрессом, регулируемым IFN- γ , – индуктором транскрипции гена IL-12. Основанная на синергизме с IFN- γ , взаимосвязи сигнальных путей STAT1 и STAT4, экспрессия IL-12 в дыхательных путях инициировала воспаление при бронхоспазме в большей степени, чем контролирующей альтернативную M2 активацию макрофагов IL-13, участвуя у больных с гиперреактивностью бронхов на гиперосмолярный стимул в M1 программировании мононуклеарных фагоцитов и ассоциируясь с развитием Th1 иммунного ответа при БА.



А



Б

Рис. Мазки индуцированной мокроты больного БА с гиперреактивностью дыхательных путей на гиперосмолярный стимул. Окраска по методу Грэхема-Кнолля. Увеличение: 1250.

А. Высокая активность МПО в гранулах нейтрофилов и макрофагов. Продукт реакции на МПО маркирован отложением бензида в виде зерен коричнево-черного цвета. Локализация отдельных зерен вне клеток, снаружи от цитоплазматической мембраны, отражает начало дегрануляции.

Б. Высокая активность МПО в нейтрофильных гранулоцитах маркирована преимущественно сливными глыбками бензида черного цвета, заполняющими цитоплазму. В макрофагах реакция на пероксидазу отсутствует. Макрофаги с признаками деструкции и цитолиза, часть клеток лизирована. В межклеточном веществе отдельные пероксидазо-позитивные гранулы коричневого цвета как результат дегрануляции.

Таким образом, более низкое содержание макрофагов в бронхах больных БА с гиперреактивностью дыхательных путей на гиперосмолярный стимул вероятнее всего обусловлено усилением секреторной функции клеток. Высокий уровень активности МПО у этих больных, зависел от пероксидазной функции секретирующих макрофагов, связан с М1 поляризацией макрофагов, свидетельствовал о Th1 иммунном ответе, ассоциированным с участием IL-12 в регуляции гиперреактивности дыхательных путей на гипертонический триггер.

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. Лямина С.В., Шимшелашвили Ш.Л., Калиш С.В., Малышева Е.В., Ларионов Н.П., Малышев И.Ю. Изменение фенотипа и фенотипической пластичности альвеолярных макрофагов при заболеваниях легких, имеющих воспалительный компонент // Пульмонология. 2012. Т.22, №6. С.83–89. EDN: PYRHKВ. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-6-83-89>
2. Никонова А.А., Хаитов М.Р., Хаитов Р.М. Характеристика и роль различных популяций макрофагов в патогенезе острых и хронических заболеваний легких // Медицинская иммунология. 2017. Т.19, №6. С.657–672. EDN: ZTSXDL. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-6-657-672>
3. Arora S., Dev K., Agarwal B., Das P., Ali Syed M. Macrophages: their role, activation and polarization in pulmonary diseases // Immunobiology. 2018. Vol.223, Iss.4-5. P.383–396. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2017.11.001>
4. Abdelaziz M.H., Abdelwahab S.F., Wan J., Cai W., Huixuan W., Jianjun C., Kumar K.D., Vasudevan A., Sadek A., Su Z., Wang S., Xu H. Alternatively activated macrophages; a double-edged sword in allergic asthma // J. Transl. Med. 2020. Vol.18. Article number: 58. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02251-w>
5. Wills-Karp M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis // Curr. Allergy Asthma Rep. 2004. Vol.4. Iss.2. P.123–131. <https://doi.org/10.1007/s11882-004-0057-6>
6. Дугарова И.Д., Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. О роли цитокинов при бронхиальной астме // Пульмонология. 2009. Т.19, №4. С.96–102. EDN: KVFBJN. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2009-4-96-102>
7. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Трофимов В.И., Нёма М.А., Иванов В.А. Рецепторы к интерлейкину-4 и -13:

строение, функция и генетический полиморфизм // Пульмонология. 2010. Т.20, №3. С.113–119. EDN: MOTVVH. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2010-3-113-119>

8. Бахаев Д.В., Стенкова А.М., Иванова Ю.В., Щеголева О.В., Просекова Е.В., Рассказов В.А., Исаева М.П. Анализ полиморфизма генов интерлейкина-13 и системы детоксикации ксенобиотиков у детей с аллергопатологией // Тихоокеанский медицинский журнал. 2012. №1. С.63–65. EDN: TCCMEF.

9. Arora P., Ansari S. Role of various mediators in inflammation of asthmatic airways // Asthma – Biological Evidences [Internet] / Pereira C., editor. London: IntechOpen, 2019. URL: <https://www.intechopen.com/chapters/66708>. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84357>

10. Jiang Z., Zhu L. Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma // J. Asthma Allergy. 2016. Vol.9. P.101–107. <https://doi.org/10.2147/JAA.S104508>

11. Малышев И.Ю., Лямина С.В., Шимшелашвили Ш.Л., Вассерман Е.Н. Функциональные ответы альвеолярных макрофагов, сурфактантный белок D и заболевания легких // Пульмонология. 2011. Т.21, №3. С.101–107. EDN: NYFOCV. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2011-0-3-101-107>

12. Сарбаева Н.Н., Пономарева Ю.В., Милякова М.Н. Макрофаги. Разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами // Гены и Клетки. 2016. Т.11, №1. С.9–17. EDN: WCLIZL. <https://doi.org/10.23868/gc120550>

13. Schroder K., Hertzog P.J., Ravasi T., Hume D.A. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions // J. Leukoc. Biol. 2004. Vol.75, Iss.2. P.163–189. <https://doi.org/10.1189/jlb.0603252>

14. Gattoni A., Parlato A., Vangieri B., Bresciani M., Derna R. Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy (type I/II) (1 of 2 parts) // Clin. Ter. 2006. Vol.157, Iss.4. P.377–386.

15. Луцкий А.А., Жирков А.А., Лобзин Д.Ю., Рао М., Алексеева Л.А., Мейерер М., Лобзин Ю.В. Интерферон-γ: биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа // Журнал инфектологии. 2015. Т.7, №4. С.10–22. EDN: VTODCZ. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22>

16. Gee K., Guzzo C., Che Mat N.F., Ma W., Kumar A. The IL-12 family of cytokines in infection, inflammation and autoimmune disorders // Inflamm. Allergy Drug Targets. 2009. Vol.8, Iss.1. P.40–52. <https://doi.org/10.2174/187152809787582507>

17. Hamza T., Barnett J.B., Li B. Interleukin 12 a key immunoregulatory cytokine in infection applications // Int. J. Mol. Sci. 2010. Vol.11, Iss.3. P.789–806. <https://doi.org/10.3390/ijms11030789>

18. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания // Пульмонология. 2012. Т.22, №1. С.5–10. EDN: OWLVFL. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10>

19. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах // Успехи биологической химии. 2013. №53. С.195–244. EDN: VAQSIL.

20. Соколов А.В., Костевич В.А., Горбунов Н.П., Григорьева Д.В., Горудко И.В., Васильев В.Б., Панасенко О.М. Связь между активной миелопероксидазой и хлорированным церулоплазмином в плазме крови пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Медицинская иммунология. 2018. Т.20, №5. С.699–710. EDN: YLTKTR. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-5-699-710>

21. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2018 update). URL: www.ginasthma.org

22. Sylvester K.P., Clayton N., Cliff I., Hepple M., Kendrick A., Kirkby J., Miller M., Moore A., Rafferty G.F., O'Reilly L., Shakespeare J., Smith L., Watts T., Bucknall M., Butterfield K. ARTP statement on pulmonary function testing 2020 // BMJ Open Respir. Res. 2020. Vol.7, Iss.1. Article number: e000575. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2020-000575>

23. Перельман Ю.М., Наумов Д.Е., Приходько А.Г., Колосов В.П. Механизмы и проявления осмотической гиперреактивности дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2016. 240 с. ISBN: 978-5-8044-1627-1

24. Djukanovic R., Sterk P.J., Fahy J.V., Hargreave F.E. Standardised methodology of sputum induction and processing // Eur. Respir. J. 2002. Vol.20, Iss.37. P.1–2. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00000102>

25. Хейхоу Ф.Г. Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия: пер. с англ. / под ред. Н.С. Кисляк. М.: Медицина, 1983. 318 с.

26. Shuai K., Liu B. Regulation of JAK-STAT signalling in the immune system // Nat. Rev. Immunol. 2003. Vol.3, Iss.11. P.942–954. <https://doi.org/10.1038/nri1226>

27. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н. Экспрессия STAT6 в лимфоцитах периферической крови больных аллергической бронхиальной астмой // Медицинская иммунология. 2007. Т.9, №4-5. С.405–410. EDN: RRWKPX. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2007-4-5-405-410>

28. 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. Vol.203, Iss.3. P.755–766. <https://doi.org/10.1084/jem.20052165>

29. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Нёма М.А., Трофимов В.И. Экспрессия транскрипционного фактора GATA-3 в лимфоцитах периферической крови больных бронхиальной астмой // Медицинская иммунология. 2010. Т.12,

№1-2. С.21–28. EDN: PVLAKR. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2010-1-2-21-28>

30. Пирогов А.Б., Наумов Д.Е., Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Th1, Th2 цитокины в реализации реакции дыхательных путей на острое холодовое воздействие у больных бронхиальной астмой // Бюллетень физиологии и патологии. дыхания. 2022. Вып.85. С.47–55. EDN: CMSDCL. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2022-85-47-55>

31. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., McLaughlin N.J.D., Banerjee A., Silliman C.C. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation // J. Leukoc. Biol. 2005. Vol.78, Iss.5. P.1025–1042. <https://doi.org/10.1189/jlb.0804442>

32. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. М.: Медицина, 1984. 272 с.

REFERENCES

1. Lyamina S.V., Shimshelashvili S.L., Kalish S.V., Malysheva E.V., Larionov N.P., Malyshev I.Yu. [Changes in phenotype and phenotypic flexibility of alveolar macrophages in inflammatory pulmonary diseases]. *Pulmonologiya* 2012; (6):83–89 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-6-83-89>

2. Nikonova A.A., Khaitov M.R., Khaitov R.M. [Characteristics and role of macrophages in pathogenesis of acute and chronic lung diseases]. *Medical Immunology (Russia)* 2017; 19(6):657–672 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-6-657-672>

3. Arora S., Dev K., Agarwal B., Das P., Ali Syed M. Macrophages: their role, activation and polarization in pulmonary diseases. *Immunobiology* 2018; 223(4-5):383–396. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2017.11.001>

4. Abdelaziz M.H., Abdelwahab S.F., Wan J., Cai W., Huixuan W., Jianjun C., Kumar K.D., Vasudevan A., Sadek A., Su Z., Wang S., Xu H. Alternatively activated macrophages; a double-edged sword in allergic asthma. *J. Transl. Med.* 2020; 18:58. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02251-w>

5. Wills-Karp M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2004; 4(2):123–131. <https://doi.org/10.1007/s11882-004-0057-6>

6. Dugarova I.D., Anaev E.Kh., Chuchalin A.G. [On the role of cytokines in bronchial asthma]. *Pul'monologiya* 2009; 19(4):96–102 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2009-4-96-102>

7. Mineev V.N., Sorokina L.N., Trofimov V.I., Nyoma M.A., Ivanov V.A. [Interleukin-4 and interleukin-13 receptors: structure, function and genetic polymorphism]. *Pulmonologiya* 2010; 20(3):113–119 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2010-3-113-119>

8. Bakhaev D.V., Stenkova A.M., Ivanova Yu.V., Schegoleva O.V., Prosekova E.V., Rasskazov V.A., Isaeva M.P. [Polymorphism of interleukin-13 genes and xenobiotic detoxification system in children with allergic pathology]. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal* 2012; (1):63–65. (in Russian).

9. Arora P., Ansari S. Role of various mediators in inflammation of asthmatic airways. In: Pereira C., editor. *Asthma – Biological Evidences* [Internet]. London: IntechOpen; 2019 [cited 2022 Oct 21]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/66708>. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84357>

10. Jiang Z., Zhu L. Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma. *J. Asthma Allergy* 2016; 9:101–107. <https://doi.org/10.2147/JAA.S104508>

11. Malyshev I.Yu., Lyamina S.V., Shimshelashvili S.L., Vasserman E.N. [Functions of alveolar macrophages and surfactant protein D in lung disease]. *Pulmonologiya* 2011; (3):101–107 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2011-0-3-101-107>

12. Sarbaeva N.N., Ponomareva J.V., Milyakova M.N. [Macrophages: diversity of phenotypes and functions, interaction with foreign materials]. *Genes & Cells* 2016; 11(1):9–17 (in Russian). <https://doi.org/10.23868/gc120550>

13. 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. <https://doi.org/10.1189/jlb.0603252>

14. Gattoni A., Parlato A., Vangieri B., Bresciani M., Derna R. Interferon-gamma: biologic functions and HCV therapy (type I/II) (1 of 2 parts). *Clin. Ter.* 2006; 157(4):377–386. PMID: 17051976.

15. Lutskii A.A., Zhirkov A.A., Lobzin D.Yu., Rao M., Alekseeva L.A., Maeurer M., Lobzin Yu.V. [Interferon- γ : biological function and application for study of cellular immune response]. *Journal Infectology* 2015; 7(4):10–22 (in Russian). <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22>

16. Gee K., Guzzo C., Che Mat N.F., Ma W., Kumar A. The IL-12 family of cytokines in infection, inflammation and autoimmune disorders. *Inflamm. Allergy Drug Targets* 2009; 8(1):40–52. <https://doi.org/10.2174/187152809787582507>

17. Hamza T., Barnett J.B., Li B. Interleukin 12 a key immunoregulatory cytokine in infection applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2010; 11(3):789–806. <https://doi.org/10.3390/ijms11030789>

18. Soodaeva S.K. [Free radical mechanisms of injury in respiratory disease]. *Pulmonologiya* 2012; (1):5–10 (in Russian). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10>

19. Panasenkov O.M., Gorudko I.V., Sokolov A.V. Hypochlorous acid as a precursor of free radicals in living systems. *Biochemistry (Mosk.)* 2013; 78(13):1466–1889. <https://doi.org/10.1134/S0006297913130075>

20. A.V. Sokolov, V.A. Kostevich, N.P. Gorbunov, D.V. Grigorieva, I.V. Gorudko, V.B. Vasilyev., O.M. Panasenkov. [A

link between active myeloperoxidase and chlorinated ceruloplasmin in blood plasma of patients with cardiovascular diseases]. *Medical Immunology (Russia)* 2018; 20(5):699–710 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-5-699-710>

21. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2018 update). Available at: www.ginasthma.org

22. Sylvester K.P., Clayton N., Cliff I., Hepple M., Kendrick A., Kirkby J., Miller M., Moore A., Rafferty G.F., O'Reilly L., Shakespeare J., Smith L., Watts T., Bucknall M., Butterfield K. ARTP statement on pulmonary function testing 2020. *BMJ Open Respir. Res.* 2020; 7(1):e000575. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2020-000575>

23. Perelman J.M., Naumov D.E., Prikhodko A.G., Kolosov V.P. [Mechanisms and manifestations of osmotic airway hyperresponsiveness]. Vladivostok: Dal'nauka; 2016 (in Russian). ISBN: 978-5-8044-1627-1

24. Djukanovic R., Sterk P.J., Fahy J.V., Hargreave F.E. Standardised methodology of sputum induction and processing. *Eur. Respir. J.* 2002; 20(37):1s–2s. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.000001022>

25. Hayhoe F.G.J., Quaglino D. [Haematological cytochemistry]. Moscow: Meditsina; 1983 (in Russian).

26. Shuai K., Liu B. Regulation of JAK-STAT signalling in the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3(11):942–954. <https://doi.org/10.1038/nri1226>

27. Mineev V.N., Sorokina L.N. [STAT6 expression by peripheral blood lymphocytes in bronchial asthma]. *Medical Immunology (Russia)* 2007; 9(4–5):405–410 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2007-4-5-405-410>

28. 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. <https://doi.org/10.1084/jem.20052165>

29. Mineev V.N., Sorokina L.N., Nyoma M.A., Trofimov V.I. [GATA-3 expression in peripheral blood lymphocytes of patients with bronchial asthma]. *Medical Immunology (Russia)* 2010; 12(1-2):21–28 (in Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2010-1-2-21-28>

30. Pirogov A.B., Naumov D.E., Prikhodko A.G., Perelman J.M. [Th1, Th2 cytokines in airway response to acute cold exposure in patients with bronchial asthma]. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2022; (85):47–55 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2022-85-47-55>

31. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., McLaughlin N.J.D., Banerjee A., Silliman C.C. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 78(5):1025–1042. <https://doi.org/10.1189/jlb.0804442>

32. Freidlin I.S. [Mononuclear phagocyte system]. Moscow: Meditsina; 1984 (in Russian).

Информация об авторах:

Алексей Борисович Пирогов, канд. мед. наук, доцент, старший научный сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Анна Григорьевна Приходько, д-р мед. наук, главный научный сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: prih-anya@ya.ru

Author information:

Aleksey B. Pirogov, MD, PhD (Med.), Associate Professor, Senior Staff Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dncfpd@dncfpd.ru

Anna G. Prikhodko, MD, PhD, DSc (Med.), Main Staff Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: prih-anya@ya.ru

Поступила 14.02.2023
Принята к печати 03.03.2023

Received February 14, 2023
Accepted March 03, 2023