

УДК 577.218:577.354.26:612.112.95]616.24-008.811.6-036.12

DOI: 10.36604/1998-5029-2024-93-38-47

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ К ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОМУ И МАКРОФАГАЛЬНОМУ КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИМ ФАКТОРАМ НА СУБПОПУЛЯЦИЯХ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

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

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Моноциты играют важную роль в развитии ХОБЛ и одновременно являются предшественниками макрофагов, которым приписывается большое значение в индукции и регуляции воспалительного процесса, в том числе, ассоциированного с действием аэрополлютантов. Различная экспрессия рецепторов к гранулоцитарно-макрофагальному (CD116) и макрофагальному (CD115) колониестимулирующим факторам может указывать на потенциал дифференцировки данных клеток в М1 или М2 макрофаги. **Цель.** Определение экспрессии рецепторов CD116 и CD115 на моноцитах больных ХОБЛ и анализ ее взаимосвязи с клинико-функциональными показателями. **Материалы и методы.** В исследование было включено 47 больных ХОБЛ различной степени тяжести и 25 лиц контрольной группы. Всем обследованным проводилась спирометрия для оценки вентиляционной функции легких. Экспрессию рецепторов CD116 и CD115 на моноцитах определяли методом проточной цитометрии. **Результаты.** Наиболее высокая экспрессия CD115 была характерна для неклассических моноцитов, а CD116, напротив, – для классических форм. У больных ХОБЛ отмечалась более высокая экспрессия CD116 на неклассических моноцитах (9,4 (5,7-13,6) % против 6,8 (4,8-11,0)%, $p=0,04$) у лиц контрольной группы. При анализе соотношения экспрессии CD116/CD115 также было выявлено его увеличение на неклассических моноцитах при ХОБЛ (0,22 (0,18-0,31) против 0,17 (0,11-0,24), $p=0,03$) у лиц контрольной группы. Среди больных ХОБЛ достоверно чаще встречались лица с соотношением экспрессии CD116/CD115 >1 на классических моноцитах (69,6% против 32,0%, $p=0,002$). Лица с преобладанием экспрессии CD116 над CD115 на классических моноцитах чаще регистрировались среди курильщиков без бронхиальной обструкции, чем у не куривших лиц контрольной группы (50,0% против 15,4%, $p=0,06$). Среди больных ХОБЛ, с индексом курения >20 пачка-лет чаще выявлялись пациенты с отношением CD116/CD115 >1 на классических моноцитах (48,6% против 9,1%, $p=0,02$). При анализе показателей вентиляционной функции легких у больных ХОБЛ с преобладанием экспрессии CD116 на классических моноцитах (CD116/CD115 >1) определялась более тяжелая бронхиальная обструкция (ОФВ₁ 36,5 (27,0-41,0)% против 48,0 (30,0-67,0)%, $p=0,02$). **Заключение.** Проведенное исследование позволило установить особенности экспрессии CD115 и CD116 на различных субпопуляциях моноцитов. Установлено, что для ХОБЛ характерно увеличение количества рецепторов CD116, экспрессия которых преобладает над CD115. Это, вероятно, свидетельствует о повышенном потенциале моноцитов к дифференцировке в М1 макрофаги, а также сочетается с более тяжелым течением заболевания.

Ключевые слова: моноциты, макрофаги, ГМ-КСФ, М-КСФ, экспрессия, ХОБЛ, курение.

PECULIARITIES OF GRANULOCYTE-MACROPHAGE AND MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTORS RECEPTORS EXPRESSION IN

Контактная информация

Дина Анатольевна Гассан, канд. мед. наук, зав. лабораторией вирус-ассоциированных патологий развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: dani-shi@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Dina A. Gassan, PhD (Med.), Head of Laboratory of Mechanisms of Virus-Associated Developmental Pathologies, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation. E-mail: dani-shi@mail.ru

Для цитирования:

Гассан Д.А., Наумов Д.Е., Сугайло И.Ю., Котова О.О., Горчакова Я.Г., Афанасьева Е.Ю. Особенности экспрессии рецепторов к гранулоцитарно-макрофагальному и макрофагальному колониестимулирующим факторам на субпопуляциях моноцитов периферической крови больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2024. Вып.93. С.38–47. DOI: 10.36604/1998-5029-2024-93-38-47

For citation:

Gassan D.A., Naumov D.E., Sugaylo I.Yu., Kotova O.O., Gorchakova Y.G., Afanas'eva E.Yu. Peculiarities of granulocyte-macrophage and macrophage colony-stimulating factors receptors expression in subpopulations of peripheral blood monocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2024; (93):38–47 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2024-93-38-47

SUBPOPULATIONS OF PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

D.A.Gassan, D.E.Naumov, I.Yu.Sugaylo, O.O.Kotova, Y.G.Gorchakova, E.Yu.Afnas'eva

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

SUMMARY. Introduction. To analyze of the severity of respiratory symptoms in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), depending on the presence of an exacerbation or novel coronavirus infection (NCVI), taking into account the activity of acute phase blood parameters. **Materials and methods.** The medical documentation of 162 patients with COPD was studied, which were divided into 3 groups: group 1 (n=61) – COPD and NCVI, group 2 (n=53) – stable COPD, group 3 (n=48) – COPD exacerbation. The severity of respiratory symptoms was assessed using points. To assess the activity of inflammation the following biochemical indicators were used – C-reactive protein (CRP) and fibrinogen (g/L). **Results.** According to the severity of cough and the intensity of dyspnea on the mMRC scale, the first, second and third groups did not differ statistically ($p=0.07$). Patients of the first group (82.5%) characterized by the absence of classical criteria for exacerbation of COPD. In terms of the severity of sputum production, the first, second and third groups are statistically different ($p=0.0001$). The first, second and third groups differ significantly in the level of serum CRP ($p=0.0001$) and fibrinogen ($p=0.009$). According to the results of the correlation analysis, some relationships found between respiratory symptoms and the level of CRP and fibrinogen. **Conclusion.** The clinical feature of the associated course of stable COPD and NCVI is the presence of severe dyspnea and the absence of classic criteria for exacerbation of COPD. Systemic inflammation in NCVI and stable COPD are more pronounced than in isolated stable COPD or exacerbation and correlates with cough and dyspnea. Practitioners for the differential diagnosis of NCVI in stable COPD can use the data obtained.

Key words: monocytes, macrophages, GM-CSF, M-CSF, expression, COPD, smoking.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одним из наиболее распространенных респираторных заболеваний и считается серьезной проблемой мирового здравоохранения. Она характеризуется необратимой обструкцией дыхательных путей, хроническим воспалением и эмфиземой [1]. ХОБЛ поражает и мужчин, и женщин, начинается в среднем и медленно прогрессирует в зрелом возрасте, что приводит к обструкции и ремоделированию легочной ткани [2]. Основными этиологическими факторами развития ХОБЛ являются курение, воздействие аэрополлютантов, инфекции, генетическая восприимчивость и ускоренное старение легких [3].

Воспаление является самым важным патогенетическим звеном при ХОБЛ, по этой причине интерес исследователей часто сосредоточен на поиске инициирующих его событий, на регуляторных механизмах и клинических последствиях. Доказано, что в воспалительном процессе при ХОБЛ участвуют нейтрофилы, эозинофилы, лимфоциты и макрофаги [4], при этом медиаторы, секретируемые данными клетками, способствуют хроническому воспалению и повреждению легочной ткани [5].

Моноциты и тканевые макрофаги обеспечивают как немедленную защиту от чужеродных агентов, так и помогают в запуске и развитии адаптивного иммунного ответа. Данные клетки изначально дифференцируются из миелоидных клеток-предшественников $CD34^+$ в костном мозге под действием макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF, CSF-1), циркулируют в кровотоке и попадают в периферические ткани, где созревают в различные типы резидентных

макрофагов, характеризующихся низким потреблением кислорода, низкой скоростью синтеза белка и скромной продукцией цитокинов [6, 7]. Воспаление, вызванное повреждением тканей или инфекцией, приводит к активации резидентных макрофагов, что увеличивает продукцию цитокинов, хемокинов, а также рекрутирование моноцитов.

Субпопуляции моноцитов можно различить по экспрессии поверхностных маркеров $CD14$ и $CD16$. $CD14^+ CD16^-$ («классические» моноциты) считаются провоспалительными, $CD14^+ CD16^+$ – промежуточными, а «неклассические» клетки $CD14^{dim} CD16^+$ играют важную роль в восстановлении тканей [8].

Рекрутинг моноцитов в легкие является важным патогенетическим звеном при ХОБЛ. Моноциты выделяют различные макромолекулы и низкомолекулярные продукты, которые опосредуют воспаление и репарацию [9]. Макрофаги в свою очередь могут поляризоваться в отдельные субпопуляции с различающейся функциональной активностью. Фенотип M1 (классически активированный) продуцирует провоспалительные цитокины (интерлейкин-1 бета, фактор некроза опухолей альфа, интерлейкин-6), в то время как фенотип M2 (альтернативно активированный) экспрессирует высокие уровни маннозных рецепторов ($CD206$), рецепторов-мусорщиков (включая $CD163$), интерлейкина-10 и фибронектина [10, 11].

Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF, CSF-2) и M-CSF были впервые идентифицированы как гемопоэтические факторы роста, но впоследствии было доказано, что они играют важную роль в регуляции зрелых популяций миелоид-

ных клеток, как в гомеостатических, так и в воспалительных условиях [12, 13]. Данные факторы имеют разные паттерны экспрессии. В то время как M-CSF продуцируется многими клетками и тканями организма, GM-CSF в основном вырабатывается активированными лейкоцитами, которые появляются в ответ на инфекцию или повреждение [14]. Ожидаемо, что M-CSF и GM-CSF также вызывают противоположный ответ в макрофагах: M-CSF индуцирует дифференцировку противовоспалительного фенотипа клеток, тогда как GM-CSF, напротив, способствует провоспалительной поляризации [15].

Целью настоящей работы было исследование экспрессии рецепторов к GM-CSF и M-CSF на моноцитах больных ХОБЛ и анализ ее взаимосвязи с клинико-функциональными показателями.

Материалы и методы исследования

Исследование 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 Министерства здравоохранения Российской Федерации. 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 исследовании принимали участие 47 больных ХОБЛ и 25 лиц контрольной группы. Средний возраст обследованных в группах составил $63,0 \pm 1,42$ лет и $51,0 \pm 2,00$ лет, соответственно. Большинство пациентов в группе ХОБЛ (85%) и все лица контрольной группы были мужчинами. Больные ХОБЛ имели преимущественно среднюю (52,2%) и тяжелую (32,6%) степень заболевания. В группе с ХОБЛ все пациенты были курильщиками (индекс курения – $35,1 \pm 2,51$ пачка-лет), в контрольной – только 48% (индекс курения – $18,7 \pm 4,39$ пачка-лет).

Бронхиальную обструкцию оценивали с помощью спирометрического исследования на аппарате Easy on-PC (niddMedizintechnik AG, Швейцария). Оценивали величины объема форсированного выдоха за 1 сек. (ОФВ₁), соотношение ОФВ₁ к форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), пиковую объемную скорость (ПОС), мгновенную объемную скорость на уровнях 25% ФЖЕЛ (МОС₂₅), 50% ФЖЕЛ (МОС₅₀), 75% ФЖЕЛ (МОС₇₅), среднюю объемную скорость (СОС₂₅₋₇₅).

Периферическую венозную кровь собирали в про-

бирку, содержащую ЭДТА, эритроциты подвергали лизису в течение 15 минут с буфером BD Pharm Lyse (BD Biosciences, США), затем однократно отмывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ) для получения суспензии лейкоцитов. К полученным лейкоцитам добавляли антитела к CD45 APC-Cy7 (Elabscience, КНР), CD14 PE-Cy7 (Elabscience, КНР), CD16 PerCP-Cy5.5 (Elabscience, КНР), CD115 FITC (Atagenix, КНР) и CD116 PE (Atagenix, КНР) и инкубировали при 4°C в течение ночи. После окончания инкубации клетки отмывали 2 мл ФСБ, ресуспендировали и анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (Becton Dickinson, США), используя программное обеспечение FACS Diva 6.0 (Becton Dickinson, США). Классические (CD14⁺CD16⁻), промежуточные (CD14⁺CD16⁺) и неклассические (CD14^{dim}CD16⁺) моноциты определяли на графиках PE-Cy7 × PerCP-Cy5.5 и выражали в процентах от общей популяции моноцитов. Экспрессию CD115 и CD116 выражали в виде % и как нормализованную медианную интенсивность флуоресценции (nMFI). Дополнительно рассчитывали показатели соотношения экспрессии CD116/CD115.

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в формате Me (Q1-Q3) – медиана и межквартильный интервал. Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью критерия Стьюдента (для нормально распределенных переменных) или критерия У Манна-Уитни (для переменных, распределение которых отличалось от нормального). Поиск взаимосвязи между количественными переменными проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена ρ . Ассоциации для качественных переменных оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. В качестве критического уровня значимости (p) принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Экспрессия рецепторов к M-CSF (CD115) была минимальной на классических моноцитах, имела средний уровень на промежуточных и становилась максимальной на неклассических формах (табл. 1). Экспрессия рецепторов к GM-CSF (CD116) имела обратную закономерность – она была минимальной на неклассических моноцитах, возрастала на промежуточных формах и достигала максимума на классических моноцитах. Данные закономерности прослеживались как среди больных ХОБЛ, так и у лиц, не имевших бронхиальной обструкции. При сравнительном анализе у больных ХОБЛ отмечалась более высокая экспрессия рецепторов CD116 на неклассических моноцитах. Различия были значимы при сравнении процентного значения и прослеживались для показателя, выраженного как nMFI.

Таблица 1

Экспрессия рецепторов к M-CSF и GM-CSF на субпопуляциях моноцитов периферической крови у больных ХОБЛ и лиц контрольной группы

Показатель	Больные ХОБЛ	Группа контроля	Значимость (p)
CD115, % (мон. кл.)	22,4 (15,9-31,8)	25,7 (15,2-38,4)	0,88
CD116, % (мон. кл.)	17,8 (11,7-31,4)	17,3 (10,2-23,2)	0,40
CD115, % (мон. промежут.)	39,8 (21,8-51,4)	35,0 (30,5-46,2)	0,57
CD116, % (мон. промежут.)	13,6 (8,7-24,8)	17,2 (7,7-21,8)	0,77
CD115, % (мон. некл.)	48,3 (30,0-72,8)	52,1 (24,7-66,7)	0,60
CD116, % (мон. некл.)	9,4 (5,7-13,6)	6,8 (4,8-11,0)	0,04
CD115, nMFI (мон. кл.)	1,77 (1,62-2,00)	1,89 (1,70-2,12)	0,51
CD116, nMFI (мон. кл.)	1,87 (1,62-2,14)	1,79 (1,60-1,97)	0,27
CD115, nMFI (мон. промежут.)	1,94 (1,70-2,14)	1,95 (1,78-2,13)	0,96
CD116, nMFI (мон. промежут.)	1,76 (1,56-2,02)	1,73 (1,54-1,94)	0,47
CD115, nMFI (мон. некл.)	2,20 (1,86-3,14)	2,32 (1,67-3,03)	0,82
CD116, nMFI (мон. некл.)	1,60 (1,43-1,81)	1,48 (1,40-1,72)	0,12
CD115, nMFI (мон. общ.)	1,81 (1,65-2,07)	1,86 (1,75-2,05)	0,61
CD116, nMFI (мон. общ.)	1,84 (1,63-2,06)	1,70 (1,63-1,96)	0,21

Ориентируясь на полученные значения соотношения экспрессии CD116/CD115, можно отметить, что у подавляющего числа обследованных лиц экспрессия рецепторов к M-CSF превалировала на моноцитах, в особенности это относилось к промежуточным и неклассическим формам (табл. 2). Соотношение экспрессии CD116/CD115 было увеличено на неклассических моноцитах больных ХОБЛ по сравнению с группой контроля, что просматривалось как для процентных показателей, так и для nMFI. Кроме этого, соотношение nMFI CD116/CD115 у больных ХОБЛ было выше на классических формах и общем пуле моноцитов.

Среди больных ХОБЛ достоверно чаще встречались лица с соотношением экспрессии nMFI

CD116/CD115 выше 1 на классических формах (69,6% против 32,0%, $p=0,002$) и общем пуле моноцитов (52,2% против 28,0%, $p=0,04$), что свидетельствовало о преобладании рецепторов GM-CSF. Несмотря на отсутствие статистической значимости, неклассические моноциты с преобладанием экспрессии CD116 встречались только среди больных ХОБЛ и отсутствовали в контрольной группе.

При сравнении экспрессии CD115 и CD116 у лиц контрольной группы было отмечено, что у курильщиков по сравнению с не курившими имеется тенденция к снижению nMFI CD115 на классических и промежуточных моноцитах, тогда как уровень CD116 значительно не изменяется (табл. 3).

Таблица 2

Соотношение экспрессии рецепторов к GM-CSF и M-CSF на субпопуляциях моноцитов периферической крови у больных ХОБЛ и лиц контрольной группы

Показатель	Больные ХОБЛ	Группа контроля	Значимость (p)
CD116/CD115, % (мон. кл.)	0,86 (0,48-1,37)	0,67 (0,37-1,25)	0,48
CD116/CD115, % (мон. промежут.)	0,46 (0,24-0,93)	0,45 (0,28-0,67)	0,81
CD116/CD115, % (мон. некл.)	0,22 (0,18-0,31)	0,17 (0,11-0,24)	0,03
CD116/CD115, nMFI (мон. кл.)	1,06 (0,99-1,17)	0,93 (0,83-1,14)	0,02
CD116/CD115, nMFI (мон. промежут.)	0,97 (0,78-1,12)	0,87 (0,79-1,08)	0,46
CD116/CD115, nMFI (мон. некл.)	0,72 (0,64-0,85)	0,65 (0,55-0,74)	0,07
CD116/CD115, nMFI (мон. общ.)	1,02 (0,90-1,13)	0,89 (0,82-1,04)	0,03

Таблица 3

Экспрессия рецепторов к M-CSF и GM-CSF на субпопуляциях моноцитов периферической крови у лиц без бронхиальной обструкции

Показатель	Курильщики	Не курившие	Значимость (p)
CD115, % (мон. кл.)	16,4 (12,7-34,1)	28,4 (17,1-40,2)	0,17
CD116, % (мон. кл.)	17,2 (9,8-24,7)	17,3 (10,9-20,5)	0,89
CD115, % (мон. промежут.)	31,2 (26,6-45,9)	37,8 (35,0-46,2)	0,15
CD116, % (мон. промежут.)	15,9 (7,7-25,5)	17,2 (11,9-20,3)	0,73
CD115, % (мон. некл.)	42,3 (24,1-59,5)	57,3 (24,7-66,7)	0,50
CD116, % (мон. некл.)	6,6 (4,8-11,6)	6,8 (4,8-10,9)	0,85
CD115, nMFI (мон. кл.)	1,75 (1,52-1,97)	2,00 (1,81-2,14)	0,06
CD116, nMFI (мон. кл.)	1,86 (1,59-2,97)	1,70 (1,60-1,94)	0,73
CD115, nMFI (мон. промежут.)	1,85 (1,74-1,98)	2,00 (1,83-2,25)	0,06
CD116, nMFI (мон. промежут.)	1,86 (1,56-1,99)	1,66 (1,54-1,94)	0,47
CD115, nMFI (мон. некл.)	2,06 (1,68-2,35)	2,83 (1,67-3,20)	0,44
CD116, nMFI (мон. некл.)	1,48 (1,40-1,58)	1,52 (1,40-1,73)	0,77
CD115, nMFI (мон. общ.)	1,85 (1,59-2,00)	1,97 (1,77-2,28)	0,21
CD116, nMFI (мон. общ.)	1,76 (1,56-1,97)	1,68 (1,63-1,91)	0,81

Вследствие этого у курильщиков также нарастало соотношение CD116/CD115 (nMFI), в особенности на классических и промежуточных формах моноцитов (табл. 4). Лица с преобладанием экспрессии CD116 над

CD115 на классических моноцитах чаще встречались среди курильщиков без бронхиальной обструкции, чем у не куривших лиц контрольной группы (50,0% против 15,4%, $p=0,06$).

Таблица 4

Соотношение экспрессии рецепторов к GM-CSF и M-CSF на субпопуляциях моноцитов периферической крови у лиц без бронхиальной обструкции

Показатель	Курильщики	Не курившие	Значимость (p)
CD116/CD115, % (мон. кл.)	0,87 (0,44-1,62)	0,57 (0,37-1,25)	0,98
CD116/CD115, % (мон. промежут.)	0,46 (0,25-0,78)	0,41 (0,31-0,58)	0,53
CD116/CD115, % (мон. некл.)	0,15 (0,12-0,29)	0,17 (0,11-0,20)	0,98
CD116/CD115, nMFI (мон. кл.)	1,04 (0,86-1,23)	0,87 (0,80-0,96)	0,06
CD116/CD115, nMFI (мон. промежут.)	0,98 (0,83-1,12)	0,80 (0,78-0,91)	0,07
CD116/CD115, nMFI (мон. некл.)	0,72 (0,62-0,78)	0,59 (0,55-0,74)	0,34
CD116/CD115, nMFI (мон. общ.)	0,98 (0,86-1,17)	0,84 (0,81-0,90)	0,08

При сравнении больных ХОБЛ и здоровых не куривших лиц также фиксировалось преобладание экспрессии CD116 на клетках больных ХОБЛ. Значимые различия обнаруживались для показателей соотношения CD116/CD115 (%) на неклассических моноцитах ($p=0,06$) и для соотношения CD116/CD115 (nMFI) на классических ($p=0,002$) и неклассических моноцитах ($p=0,04$), а также на общем пуле моноцитов ($p=0,004$).

Несмотря на отсутствие корреляционных взаимосвязей с индексом курения, злостное курение (>20 пачка-лет) служило фактором, вызывающим увеличение количества рецепторов CD116 по отношению к CD115, на классических моноцитах больных ХОБЛ. Так, среди злостных курильщиков было выявлено 48,6% лиц с отношением CD116/CD115 (%) >1, в то время как у больных с индексом пачка-лет менее 20 – лишь 9,1% ($p=0,02$). Значимые различия выявлялись при анализе аналогичного соотношения для показателей nMFI на классических моноцитах (77,1% против 45,5%, $p=0,04$). При этом промежуточные и неклассические моноциты не имели различий в преобладании экспрессии CD116 в зависимости от анамнеза курения.

Показатели экспрессии рецепторов к GM-CSF и M-CSF сами по себе не были связаны с особенностями вентиляционной функции легких у больных ХОБЛ (табл. 5). Однако корреляционный анализ отношения CD116/CD115 выявил обратные взаимосвязи со спирометрическими показателями. Например, показатель CD116/CD115 (nMFI) обратно коррелировал с ОФВ₁

($\rho=-0,28$, $p=0,07$), ЖЕЛ ($\rho=-0,30$, $p=0,04$) и ФЖЕЛ ($\rho=-0,28$, $p=0,07$). Кроме этого, при анализе показателей вентиляционной функции легких у больных ХОБЛ с преобладанием экспрессии CD116 на классических моноцитах (CD116/CD115 >1) определялась более тяжелая бронхиальная обструкция.

В проведенном исследовании нами впервые была одновременно проанализирована экспрессия рецепторов к GM-CSF и M-CSF на различных субпопуляциях моноцитов, что позволило оценить их соотношение на моноцитах больных ХОБЛ и здоровых лиц. Полученные результаты соотносятся с выявленной высокой экспрессией CD115 [16], но низким уровнем CD116 [17] на неклассических моноцитах. Можно предположить, что преобладание экспрессии CD115 говорит о большей восприимчивости неклассических моноцитов к M-CSF, что, в свою очередь, будет обеспечивать преимущественную дифференцировку в M2 противовоспалительный фенотип макрофагов, участвующий в процессах репарации тканей. Действительно, экспериментальные данные Olingy C.E. et al. подтверждают данное предположение, указывая, что неклассические моноциты дифференцируются в альтернативно-активированные макрофаги [18].

Ранее нам удалось продемонстрировать, что ХОБЛ ассоциирована не только с относительным снижением числа неклассических моноцитов, но и с изменением их фенотипа. Неклассические моноциты больных ХОБЛ отличались повышенной экспрессией CD116 и

увеличением соотношения CD116/CD115, что указывает на снижение их противовоспалительного потенциала. В то же время, и на классических моноцитах больных ХОБЛ чаще (до 70% случаев) отмечалось преобладание экспрессии CD116 над CD115, что говорит о провоспалительной поляризации клеток, тогда как у здоровых лиц все было наоборот – экспрессия CD115 чаще преобладала над CD116. Согласно нашим данным, курение являлось основным фактором, нарушающим нормальный баланс экспрессии CD115 и CD116. Относительная гиперэкспрессия CD116 отмечалась и

у больных ХОБЛ с длительным анамнезом курения по сравнению с пациентами, имевшими не столь высокий индекс курения, и у курильщиков без бронхиальной обструкции по сравнению с не курившими лицами. Кроме того, преобладание экспрессии CD116 было связано с более выраженным снижением бронхиальной проходимости у больных ХОБЛ, однако однозначно определить, обусловлена ли данная взаимосвязь изменением экспрессии рецепторов GM-CSF или же является простым следствием злостного курения, на настоящем этапе не представляется возможным.

Таблица 5

Показатели вентиляционной функции легких у больных ХОБЛ с соотношением экспрессии CD116/CD115 (в %) >1 или ≤1 на классических моноцитах периферической крови

Показатель	CD116/CD115 >1	CD116/CD115 ≤1	Значимость (p)
ЖЕЛ, %	61,0 (49,0-72,0)	75,0 (56,0-86,0)	0,02
ФЖЕЛ, %	63,0 (47,0-71,0)	75,0 (57,0-87,0)	0,03
ОФВ ₁ , %	36,5 (27,0-41,0)	48,0 (30,0-67,0)	0,02
ИТ, %	42,9 (34,2-52,4)	55,2 (40,6-64,2)	0,04
ПОС, %	37,0 (30,0-42,0)	56,0 (36,0-68,0)	0,03
МОС ₂₅ , %	13,5 (11,0-18,0)	26,0 (13,0-48,0)	0,02
МОС ₅₀ , %	14,0 (12,0-16,0)	21,0 (12,6-29,0)	0,08
МОС ₇₅ , %	20,5 (16,0-27,0)	20,0 (15,5-32,5)	0,71
СОС ₂₅₋₇₅ , %	14,5 (10,0-18,0)	20,0 (13,0-32,0)	0,07

Заключение

Таким образом, проведенное исследование позволило установить градиентное увеличение экспрессии рецепторов к M-CSF (CD115) от классических моноцитов к неклассическим, и, напротив, экспрессия рецепторов к GM-CSF (CD116) снижалась, достигая минимума на неклассических моноцитах. Это наблюдение соотносится с представлением о неклассических моноцитах как о противовоспалительных клетках.

Полученные результаты указывают, что моноциты больных ХОБЛ характеризуются нарушениями в экспрессии рецепторов к основным факторам, регулирующим их дифференцировку. В частности, по-видимому, происходит снижение противовоспалительного потенциала неклассических моноцитов, о чем свидетельствует низкая экспрессия CD115 и увеличенное соотношение CD116/CD115. Кроме того, преобладание экспрессии CD116 над CD115 отмечается и на наиболее распространенных классических формах моноцитов у большей части больных ХОБЛ, что является отклонением от нормы и сопровождается нарастанием бронхиальной обструкции.

Наконец, мы установили, что курение служит важным фактором в индукции наблюдаемых изменений, поскольку преобладание экспрессии CD116 на моноцитах обнаруживается не только у больных ХОБЛ, но

и у здоровых курильщиков, а злостное курение ассоциировано с соотношением CD116/CD115 >1.

В качестве перспективных направлений для дальнейших исследований можно рассматривать изучение молекулярных механизмов, регулирующих экспрессию рецепторов CD115 и CD116, проведение сравнительного анализа уровней циркулирующих M- и GM-CSF у больных ХОБЛ и здоровых лиц, а также определение влияния соотношения экспрессии CD116/CD115 на функциональные характеристики моноцитов, в том числе их способности дифференцироваться в макрофаги различных фенотипов.

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 выполнено в рамках программы фундаментальных исследований Министерства науки и высшего образования РФ (FGWF-2022-0005)

Funding Sources

This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under the Program for Basic Research (FGWF-2022-0005)

ЛИТЕРАТУРА

1. Kapellos T.S., Bassler K., Aschenbrenner A.C., Fujii W., Schultze J.L. Dysregulated functions of lung macrophage populations in COPD // *J. Immunol. Res.* 2018. Vol.2018. Article number:2349045. <https://doi.org/10.1155/2018/2349045>
2. Gershon A.S., Warner L., Cascagnette P., Victor J.C., To T. Lifetime risk of developing chronic obstructive pulmonary disease: a longitudinal population study // *Lancet.* 2011. Vol.378, №9795. P.991–996. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60990-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60990-2)
3. Lopez-Campos J. L., Tan W., Soriano J. B. Global burden of COPD // *Respirology.* 2016. Vol.21, Iss.6. P.14–23. <https://doi.org/10.1111/resp.12660>
4. Corrigan C.J., Kay A.B. The roles of inflammatory cells in the pathogenesis of asthma and of chronic obstructive pulmonary disease // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991. Vol.143, №5(Pt1). P.1165–1168. https://doi.org/10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1165
5. Chung K.F. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease // *Eur. Respir. J. Suppl.* 2001. Vol.34. P.50s–59s.
6. Grage-Griebenow E., Flad H.D., Ernst M. Heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets // *J. Leukoc. Biol.* 2001. Vol.69, №1. P.11–20. <https://doi.org/10.1189/jlb.69.1.11>
7. Hume D.A., Ross I.L., Himes S.R., Sasmono R.T., Wells C.A., Ravasi T. The mononuclear phagocyte system revisited // *J. Leukoc. Biol.* 2002. Vol.72, Iss.4. P. 621–627. <https://doi.org/10.1189/jlb.72.4.621>
8. Auffray C., Sieweke M.H., Geissmann F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells // *Annu. Rev. Immunol.* 2009. Vol.27. P.669–692. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132557>
9. Cornwell W.D., Kim V., Fan X., Vega M.E., Ramsey F.V., Criner G.J., Rogers T.J. Activation and polarization of circulating monocytes in severe chronic obstructive pulmonary disease // *BMC Pulm. Med.* 2018. Vol.18, Iss.1. Article number:101. <https://doi.org/10.1186/s12890-018-0664-y>
10. Martinez F., Gordon S., Locati M., Mantovani A. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression // *J. Immunol.* 2006. Vol.177, №10. P.7303–7311. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.10.7303>
11. Martinez F., Helming L., Gordon S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective // *Annu. Rev. Immunol.* 2009. Vol.27. P.451–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132532>
12. Hamilton J.A., Achuthan A. Colony stimulating factors and myeloid cell biology in health and disease // *Trends Immunol.* 2013. Vol.34, №2. P.81–89. <https://doi.org/10.1016/j.it.2012.08.006>
13. Hamilton J.A. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity // *Nat. Rev. Immunol.* 2008. Vol.8, №7. P.533–544. <https://doi.org/10.1038/nri2356>
14. Ushach I., Zlotnik A. Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage // *J. Leukoc. Biol.* 2016. Vol.100, Iss.3. P.481–489. <https://doi.org/10.1189/jlb.3RU0316-144R>
15. Trus E., Basta S., Gee K. Who's in charge here? Macrophage colony stimulating factor and granulocyte macrophage colony stimulating factor: Competing factors in macrophage polarization // *Cytokine.* 2020. Vol. 127. Article number:154939. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154939>
16. Wong K.L., Tai J.J., Wong W.C., Han H., Sem X., Yeap W.H., Kourilsky P., Wong S.C. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets // *Blood.* 2011. Vol.118, Iss.5. P.e16–31. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-326355>
17. Evren E., Ringqvist E., Tripathi K.P., Sleiers N., Rives I.C., Alisjahbana A., Gao Y., Sarhan D., Halle T., Sorini C., Lepzien R., Marquardt N., Michaëlsson J., Smed-Sörensen A., Botling J., Karlsson M.C.I., Villablanca E.J., Willinger T. Distinct developmental pathways from blood monocytes generate human lung macrophage diversity // *Immunity.* 2021. Vol.54, Iss.2. P.259–275.e7. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.12.003>
18. Olingy C.E., San Emeterio C.L., Ogle M.E., Krieger J.R., Bruce A.C., Pfau D.D., Jordan B.T., Peirce S.M., Botchwey E.A. Non-classical monocytes are biased progenitors of wound healing macrophages during soft tissue injury // *Sci. Rep.* 2017. Vol.7, Iss.1. Article number:447. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00477-1>

REFERENCES

1. Kapellos T.S., Bassler K., Aschenbrenner A.C., Fujii W., Schultze J.L. Dysregulated functions of lung macrophage populations in COPD. *J. Immunol. Res.* 2018; 2018:2349045. <https://doi.org/10.1155/2018/2349045>
2. Gershon A.S., Warner L., Cascagnette P., Victor J.C., To T. Lifetime risk of developing chronic obstructive pulmonary disease: a longitudinal population study. *Lancet* 2011; 378(9795):991–996. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60990-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60990-2)
3. Lopez-Campos J.L., Tan W., Soriano J.B. Global burden of COPD. *Respirology* 2016; 21(6):14–23. <https://doi.org/10.1111/resp.12660>
4. Corrigan C.J., Kay A.B. The roles of inflammatory cells in the pathogenesis of asthma and of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1991; 143(5Pt1):1165–1168. https://doi.org/10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1165

5. Chung K.F. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J. Suppl.* 2001; 34:50s–59s.
6. Grage-Griebenow E., Flad H.D., Ernst M. Heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 69(1):11–20. <https://doi.org/10.1189/jlb.69.1.11>
7. Hume D.A., Ross I.L., Himes S.R., Sasmono R.T., Wells C.A., Ravasi T. The mononuclear phagocyte system revisited. *J. Leukoc. Biol.* 2002; 72(4):621–627. <https://doi.org/10.1189/jlb.72.4.621>
8. Auffray C., Sieweke M.H., Geissmann F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2009; 27:669–692. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132557>
9. Cornwell W.D., Kim V., Fan X., Vega M.E., Ramsey F.V., Criner G.J., Rogers T.J. Activation and polarization of circulating monocytes in severe chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Pulm. Med.* 2018; 18(1):101. <https://doi.org/10.1186/s12890-018-0664-y>
10. Martinez F., Gordon S., Locati M., Mantovani A. Transcriptional Profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression. *J. Immunol.* 2006; 177(10):7303–7311. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.10.7303>
11. Martinez F., Helming L., Gordon S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annu. Rev. Immunol.* 2009; 27:451–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132532>
12. Hamilton J.A., Achuthan A. Colony stimulating factors and myeloid cell biology in health and disease. *Trends Immunol.* 2013; 34(2):81–89. <https://doi.org/10.1016/j.it.2012.08.006>
13. Hamilton J.A. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8(7):533–544. <https://doi.org/10.1038/nri2356>
14. Ushach I., Zlotnik A. Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) on cells of the myeloid lineage. *J. Leukoc. Biol.* 2016; 100(3): 481–489. <https://doi.org/10.1189/jlb.3RU0316-144R>
15. Trus E, Basta S, Gee K. Who's in charge here? Macrophage colony stimulating factor and granulocyte macrophage colony stimulating factor: Competing factors in macrophage polarization. *Cytokine* 2020; 127:154939. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154939>
16. Wong K.L., Tai J.J., Wong W.C., Han H., Sem X., Yeap W.H., Kourilsky P., Wong S.C. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood* 2011; 118(5):e16–31. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-326355>
17. Evren E., Ringqvist E., Tripathi K.P., Sleiers N., Rives I.C., Alisjahbana A., Gao Y., Sarhan D., Halle T., Sorini C., Lepzien R., Marquardt N., Michaëlsson J., Smed-Sörensen A., Botling J., Karlsson M.C.I., Villablanca E.J., Willinger T. Distinct developmental pathways from blood monocytes generate human lung macrophage diversity. *Immunity* 2021; 54(2):259–275.e7. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.12.003>
18. Olingy C.E., San Emeterio C.L., Ogle M.E., Krieger J.R., Bruce A.C., Pfau D.D., Jordan B.T., Peirce S.M., Botchwey E.A. Non-classical monocytes are biased progenitors of wound healing macrophages during soft tissue injury. *Sci. Rep.* 2017; 7(1):447. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00477-1>

Информация об авторах:

Дина Анатольевна Гассан, канд. мед. наук, зав. лабораторией вирус-ассоциированных патологий развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: dani-shi@mail.ru

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

Ивана Юрьевна Сугайло, канд. мед. наук, 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

Олеся Олеговна Котова, канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория вирус-ассоциированных патологий развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Author information:

Dina A. Gassan, PhD (Med.), Head of Laboratory of Mechanisms of Virus-Associated Developmental Pathologies, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: dani-shi@mail.ru

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, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: ivanka_888@mail.ru

Olesya O. Kotova, PhD (Med.), Senior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Virus-Associated Developmental Pathologies, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: foxy_voxy_on@mail.ru

Яна Геннадьевна Горчакова, младший научный сотрудник, лаборатория вирус-ассоциированных патологий развития, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

Yana G. Gorchakova, Junior Staff Scientist, Laboratory of Mechanisms of Virus-Associated Developmental Pathologies, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: yana.janet.gorchakova@gmail.com

Евгения Юрьевна Афанасьева, канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: evgeniyananev@yandex.ru

Evgeniya Yu. Afanas'eva, PhD (Med.), Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: evgeniyananev@yandex.ru

*Поступила 01.08.2024
Принята к печати 15.08.2024*

*Received August 01, 2024
Accepted August 15, 2024*
