

УДК 579.262[(612.112.95+612.017.11)616-002.18]:616.24-008.811.6-036.12

DOI: 10.36604/1998-5029-2024-94-87-94

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МАКРОФАГАЛЬНОГО И ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩИХ ФАКТОРОВ НА РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

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

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

РЕЗЮМЕ. Введение. Гранулоцитарно-макрофагальный (ГМ-КСФ) и макрофагальный (М-КСФ) колониестимулирующие факторы вырабатываются различными клетками и регулируют пролиферацию и дифференцировку моноцитов и макрофагов. Концентрации данных веществ могут значительно варьировать при многих заболеваниях, в том числе при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). **Цель.** Провести анализ концентраций ГМ-КСФ и М-КСФ в плазме крови больных ХОБЛ и лиц без бронхиальной обструкции и определить закономерности изменения данных факторов при ХОБЛ. **Материалы и методы.** В исследование было включено 53 куривших больных ХОБЛ и 24 человека без бронхиальной обструкции, из них 46% курильщиков. Показатели вентиляционной функции легких измеряли с помощью спирометрии. Концентрации ГМ-КСФ и М-КСФ определяли в плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа. Цитокины (интерлейкин (IL)-4, IL-2, IL-1 β , фактор некроза опухоли (TNF)- α , хемокиновый лиганд С-С мотива (CCL) 2, С-Х-С-хемокин (CXCL)-10, IL-17A, IL-6, IL-10, интерферон (IFN)- γ , IL-12p70, IL-8) определяли методом мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа. **Результаты.** Уровень М-КСФ был значимо снижен у больных ХОБЛ по сравнению с группой контроля (0,99 (0,39-2,10) пг/мл против 2,18 (0,55-3,43) пг/мл, $p=0,04$). Медианное значение ГМ-КСФ, напротив, было выше при ХОБЛ, хотя различия с контрольной группой были незначимы (0,57 (0,0-2,49) пг/мл против 0,28 (0,0-1,81) пг/мл, $p=0,73$). Соотношение ГМ-КСФ/М-КСФ составляло 0,17 (0,0-2,30) у больных ХОБЛ и 0,15 (0,0-0,80) у лиц без бронхиальной обструкции ($p=0,85$). Концентрации М-КСФ и ГМ-КСФ не коррелировали между собой, а также не были связаны с возрастом, индексом курения и показателями вентиляционной функции легких. Выявлены прямые корреляции между уровнем ГМ-КСФ и процентным содержанием циркулирующих классических моноцитов у больных ХОБЛ ($p=0,38$, $p=0,008$). **Заключение.** Учитывая важную роль М-КСФ в дифференцировке противовоспалительных M2 макрофагов, снижение уровня данного фактора может быть ассоциировано с провоспалительной поляризацией клеток при ХОБЛ.

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

POSSIBLE ROLE OF M-CSF AND GM-CSF IN THE PATHOGENESIS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

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

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

SUMMARY. Introduction. Granulocyte-macrophage (GM-CSF) and macrophage (M-CSF) colony-stimulating factors are produced by various cells and regulate the proliferation and differentiation of monocytes and macrophages. Concentrations of these substances may vary significantly in many diseases including chronic obstructive pulmonary disease

Контактная информация

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», 675000, Россия, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22. E-mail: ivanka_888@mail.ru

Correspondence should be addressed to

Ivana Yu. Sugaylo, PhD (Med.), Staff Scientist, 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: ivanka_888@mail.ru

Для цитирования:

Сугайло И.Ю., Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Котова О.О., Шелудько Е.Г., Синюк А.А. Оценка влияния макрофагального и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующих факторов на развитие хронической обструктивной болезни легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2024. Вып.94. С.87–94. DOI: 10.36604/1998-5029-2024-94-87-94

For citation:

Sugaylo I.Yu., Naumov D.E., Gassan D.A., Kotova O.O., Sheludko E.G., Sinyuk A.A. Possible role of M-CSF and GM-CSF in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* = *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2024; (94):87–94 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2024-94-87-94

(COPD). **Aim.** To analyze the concentrations of GM-CSF and M-CSF in the blood plasma of COPD patients and individuals without bronchial obstruction and to determine the patterns of change in these factors in COPD. **Materials and methods.** The study included 53 smokers with COPD and 24 subjects without bronchial obstruction of which 46% were smokers. Parameters of lung function were measured by spirometry. The concentrations of GM-CSF and M-CSF were determined in the blood plasma using enzyme-linked immunosorbent assay. Cytokines (interleukin (IL)-4, IL-2, IL-1 β , tumor necrosis factor (TNF)- α , chemokine C-C motif ligand (CCL) 2, C-X-C chemokine (CXCL)-10, IL-17A, IL-6, IL-10, interferon (IFN)- γ , IL-12p70, IL-8) were determined by multiplex immunofluorescence analysis. **Results.** The level of M-CSF was significantly reduced in patients with COPD compared to the control group (0.99 (0.39-2.10) pg/ml vs. 2.18 (0.55-3.43) pg/ml, $p=0.04$). The median value of GM-CSF, on the contrary, was higher in COPD, although the differences with the control group were not significant (0.57 (0.0-2.49) pg/ml vs. 0.28 (0.0-1.81) pg/ml, $p=0.73$). The GM-CSF/M-CSF ratio was 0.17 (0.0-2.30) in patients with COPD and 0.15 (0.0-0.80) in those without bronchial obstruction ($p=0.85$). Concentrations of M-CSF and GM-CSF did not correlate with each other, and were also not associated with age, smoking index, and lung function parameters. Direct correlations were revealed between GM-CSF and percentage of circulating classical monocytes in COPD ($\rho=0.38$, $p=0.008$). **Conclusion.** Considering the important role of M-CSF in the differentiation of anti-inflammatory M2 macrophages, a decrease in the level of this factor may be associated with pro-inflammatory cell polarization in COPD.

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

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – это неуклонно прогрессирующее заболевание, влекущее за собой сердечно-сосудистую патологию, дыхательную недостаточность, а также рак легких [1]. Ожидается, что к 2025 году число случаев ХОБЛ во всем мире возрастет до 600 млн человек [2]. Данное заболевание характеризуется постоянными респираторными симптомами – одышкой при незначительной нагрузке, кашлем с выделением мокроты, ограничением воздушного потока из-за воспаления, ремоделирования бронхов и разрушением альвеол. ХОБЛ развивается как вследствие генетической предрасположенности, так и при участии внешних факторов, среди которых активное или пассивное курение [3]. Вдыхаемые аэрополлютанты вызывают окислительный процесс в легких, привлекающий макрофаги, нейтрофилы, Т-лимфоциты. При длительном систематическом воздействии сигаретного дыма запускается хроническое воспаление, которое спустя годы приобретает системный характер [4], в кровоток выбрасываются провоспалительные цитокины, такие как интерферон (IFN)- γ , интерлейкин (IL)-4, фактор некроза опухоли (TNF)- α , гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), которые поддерживают воспалительную реакцию и способствуют прогрессированию заболевания [5].

Макрофаги тесно связаны с развитием ХОБЛ, поскольку являются источниками факторов хемотаксиса, привлекающих другие воспалительные клетки, что может усугубить повреждение тканей [6]. Выделяют классические провоспалительные (M1) и неклассические противовоспалительные (M2) макрофаги, однако у больных ХОБЛ по мере увеличения тяжести заболевания находят уникальные формы этих клеток, которые плохо поляризованы и характеризуются сниженной фагоцитарной активностью. В целом, для данной категории пациентов свойственно повышение числа M1 макрофагов и, соответственно, уменьшение количества M2 субпопуляции [7]. Интересно, что при отказе от ку-

рения у больных ХОБЛ происходит возрастание M2 макрофагов [8], что лишний раз доказывает важную роль курения в поляризации данных клеток. Макрофаги, происходящие из моноцитов циркулирующей крови, имеют отчетливые эпигенетические отпечатки своих предшественников [9], поэтому изучение моноцитов может пролить свет на дефектный фагоцитоз, aberrantную поляризацию и провоспалительную активность макрофагов у больных ХОБЛ.

Доказано, что предшественники моноцитов под действием ГМ-КСФ превращаются в классические подтипы, имеющие на своей мембране молекулы кластера дифференцировки (CD) 14 (CD14⁺⁺CD16⁻). Эти клетки секретируют провоспалительные медиаторы, главным образом IL и хемокиновый лиганд C-C мотива (CCL): IL-6, IL-8, CCL2, CCL3 и CCL5, далее мигрируют в ткани, превращаясь в макрофаги и дендритные клетки, или погибают, а часть из них «переходит» в промежуточные моноциты, у которых на мембране появляется новый рецептор CD16 (CD14⁺⁺CD16⁺) [6]. Последние выполняют функцию презентации антигенов, при этом есть данные, что промежуточные моноциты являются основными производителями противовоспалительного IL-10, однако их точная роль остается невыясненной [10]. По мере созревания промежуточные моноциты превращаются в неклассическую форму, имеющую малое количество CD14 рецепторов, но большое – CD16 (CD14^{dim}CD16⁺). Неклассические клетки способны продуцировать мембранный белок CD11c, благодаря чему они могут адгезироваться к эндотелию и осуществлять «патрулирование» стенок сосудов. Кроме того, они избирательно синтезируют провоспалительные цитокины (IL-1 β , TNF- α и CCL3) в ответ на вирусные антигены, на бактериальные антигены эта субпопуляция не реагирует [7]. Благодаря макрофагальному колониестимулирующему фактору (М-КСФ) неклассическая субпопуляция в тканях превращается в противовоспалительные макрофаги (M2) [5, 6], характеризующихся экспрессией высоких уров-

ней противовоспалительных IL-10 и CCL2 [12]. ГМ-КСФ, в отличие от М-КСФ, обладает низким базальным уровнем секреции в гомеостатических условиях, однако его содержание повышается по время инфекции и при воспалении. Экспрессия ГМ-КСФ индуцируется провоспалительными IL-1 α , IL-1 β , TNF- α и IL-12, а подавляется IL-4, IFN- γ и IL-10 [12]. ГМ-КСФ реализует широкий спектр эффекторных функций во многих клетках иммунной системы, включая моноциты, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы, Т- и В-клетки, что доказывает неотъемлемую роль этого цитокина в борьбе со многими патогенами. Ряд исследований, направленных на изучение ГМ-КСФ, выявил повышение этого фактора у больных ХОБЛ по сравнению со здоровыми лицами [5, 7, 13], однако данных о соотношении концентраций ГМ-КСФ и М-КСФ, а также взаимосвязи обоих факторов с показателями функции внешнего дыхания и вышеупомянутыми цитокинами в доступной нам литературе не обнаружено.

Целью нашего исследования явилось проведение анализа концентраций ГМ-КСФ и М-КСФ в плазме крови больных ХОБЛ и лиц без бронхиальной обструкции и определение закономерностей изменения данных факторов при ХОБЛ.

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. 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 основную группу были включены 53 куривших больных ХОБЛ в период ремиссии заболевания, в контрольную группу – 24 человека не имевших бронхиальной обструкции, среди которых 46% были курящими. Средний возраст обследованных в группах составил соответственно 63,7 $\pm$ 1,28 лет и 51,5 $\pm$ 2,03 лет, индекс курения – 36,7 $\pm$ 2,3 и 18,7 $\pm$ 3,4 пачка-лет. Большинство лиц в группе ХОБЛ (87%) и все лица контрольной группы были мужчинами. Больные ХОБЛ имели легкую (1,9%), среднюю (51,9%), тяжелую (32,7%) и крайне тяжелую (13,5%) степень заболевания. Критериями исключения из исследования явилось наличие бронхиальной астмы, онкологических, эндокринных заболеваний и других соматических патологий в стадии обострения.

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 жизнен-

ной емкости легких (ФЖЕЛ), пиковую объемную скорость (ПОС), максимальную объемную скорость на уровнях 25% ФЖЕЛ (МОС₂₅), 50% ФЖЕЛ (МОС₅₀), 75% ФЖЕЛ (МОС₇₅), среднюю объемную скорость (СОС₂₅₋₇₅), отношение ОФВ₁ к ФЖЕЛ (ОФВ₁/ФЖЕЛ).

Периферическую венозную кровь собирали в пробирку, 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 клеткам добавляли антитела к CD45 APC-Cy7 (Elabscience, КНР), CD14 PE-Cy7 (Elabscience, КНР), CD16 PerCP-Cy5.5 (Elabscience, КНР) и инкубировали при 4°C в течение 16 часов. 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 $\times$ PerCP-Cy5.5 и выражали в процентах от общей популяции моноцитов. Полученную плазму замораживали и хранили при -80°C для последующего анализа. Концентрации ГМ-КСФ и М-КСФ определяли в плазме с помощью твердофазного иммуноферментного анализа коммерческими наборами производства Cloud-Clone (КНР). Полученные концентрации выражали в пг/мл. Концентрации цитокинов IL-4, IL-2, IL-1 β , TNF- α , CCL2, C-X-C-хемокин (CXCL)-10, IL-17A, IL-6, IL-10, IFN- γ , IL-12p70, IL-8 в плазме крови измеряли в пг/мл с помощью мультиплексного анализа коммерческими наборами LEGENDplex (BioLegend, США) согласно протоколам производителя, на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (Becton Dickinson, США).

Статистические расчеты выполняли в программном пакете Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в формате $M \pm m$ – среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего (для нормально распределенных переменных), Me (Q1-Q3) – медиана и межквартильный интервал (для переменных, распределение которых отличалось от нормального). Оценку значимости межгрупповых различий для количественных переменных выполняли с помощью критерия Стьюдента (для нормально распределенных переменных) или критерия U Манна-Уитни (для переменных, распределение которых отличалось от нормального). Поиск взаимосвязи между количественными переменными проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена r . В качестве критического уровня значимости различий (p) принимали значение 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Уровень М-КСФ в плазме крови был значимо снижен у больных ХОБЛ по сравнению с группой конт-

роля. Медианное значение ГМ-КСФ, напротив, было выше при ХОБЛ, хотя различия с контрольной группой были незначимы (табл. 1). Для того чтобы определить относительное преобладание ГМ-КСФ над М-КСФ нами было подсчитано соотношение ГМ-КСФ/М-КСФ.

Медианные значения данного параметра статистически не отличались в изучаемых группах, однако верхнеквартильные показатели ГМ-КСФ/М-КСФ в основной группе были выше по сравнению с контрольной.

Таблица 1

Взаимосвязи ГМ-КСФ и М-КСФ в исследуемых группах

Показатель	Больные ХОБЛ	Группа контроля	Значимость различий
М-КСФ, пг/мл	0,99 (0,39-2,10)	2,19 (0,55-3,43)	0,04
ГМ-КСФ, пг/мл	0,57 (0,0-2,49)	0,28 (0,0-1,81)	0,73
ГМ-КСФ/М-КСФ	0,17 (0,0-2,30)	0,15 (0,0-0,80)	0,85

Концентрации ГМ-КСФ и М-КСФ у больных ХОБЛ не коррелировали между собой, а также не были свя-

заны с возрастом, индексом курения, показателями вентилиционной функции легких (табл. 2).

Таблица 2

Взаимосвязи ГМ-КСФ, М-КСФ с клинико-функциональными показателями у больных ХОБЛ

Показатель	ГМ-КСФ, пг/мл	М-КСФ, пг/мл	ГМ-КСФ/М-КСФ
Возраст, лет	$\rho=-0,09$ ($p=0,5$)	$\rho=-0,17$ ($p=0,2$)	$\rho=-0,11$ ($p=0,5$)
Индекс курения, пачка-лет	$\rho=-0,07$ ($p=0,6$)	$\rho=-0,01$ ($p=0,9$)	$\rho=-0,07$ ($p=0,6$)
ЖЕЛ, % от должного	$\rho=0,06$ ($p=0,7$)	$\rho=0,07$ ($p=0,6$)	$\rho=0,13$ ($p=0,4$)
ФЖЕЛ, % от должного	$\rho=0,03$ ($p=0,8$)	$\rho=0,09$ ($p=0,5$)	$\rho=0,13$ ($p=0,4$)
ОФВ ₁ , % от должного	$\rho=0,02$ ($p=0,8$)	$\rho=0,05$ ($p=0,7$)	$\rho=0,12$ ($p=0,4$)
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	$\rho=0,11$ ($p=0,5$)	$\rho=-0,07$ ($p=0,6$)	$\rho=0,12$ ($p=0,5$)
ПОС, % от должного	$\rho=0,14$ ($p=0,3$)	$\rho=-0,07$ ($p=0,6$)	$\rho=0,29$ ($p=0,1$)
МОС ₇₅ , % от должного	$\rho=0,14$ ($p=0,3$)	$\rho=0,06$ ($p=0,6$)	$\rho=0,24$ ($p=0,1$)
МОС ₅₀ , % от должного	$\rho=0,06$ ($p=0,6$)	$\rho=0,05$ ($p=0,7$)	$\rho=0,17$ ($p=0,3$)
МОС ₂₅ , % от должного	$\rho=0,06$ ($p=0,5$)	$\rho=-0,06$ ($p=0,6$)	$\rho=0,26$ ($p=0,1$)
МОС ₂₅₋₇₅ , % от должного	$\rho=0,0002$ ($p=0,9$)	$\rho=0,07$ ($p=0,6$)	$\rho=0,10$ ($p=0,5$)

Были выявлены прямые корреляции между уровнем ГМ-КСФ и содержанием классических моноцитов, в то время как с промежуточными подтипами данный фактор находился в отрицательной корреляции ($p=0,01$). Соотношение ГМ-КСФ к М-КСФ также по-

казывало аналогичные корреляции у больных ХОБЛ, а корреляции между концентрацией М-КСФ и количеством моноцитов были статистически незначимыми (табл. 3). В группе контроля корреляционных связей не было выявлено.

Таблица 3

Взаимосвязи ГМ-КСФ, М-КСФ с субпопуляциями моноцитов у больных ХОБЛ

Показатель	Классические моноциты, %	Промежуточные моноциты, %	Неклассические моноциты, %
ГМ-КСФ, пг/мл	$\rho=0,38$ ($p=0,008$)	$\rho=-0,34$ ($p=0,01$)	$\rho=-0,19$ ($p=0,17$)
М-КСФ, пг/мл	$\rho=-0,05$ ($p=0,73$)	$\rho=-0,06$ ($p=0,70$)	$\rho=0,18$ ($p=0,22$)
ГМ-КСФ/М-КСФ	$\rho=0,41$ ($p=0,01$)	$\rho=-0,39$ ($p=0,01$)	$\rho=-0,20$ ($p=0,22$)

Также нам не удалось выявить корреляций между уровнем ГМ-КСФ, М-КСФ и концентрациями анали-

зируемых цитокинов в плазме крови больных ХОБЛ (табл. 4).

Таблица 4

Взаимосвязи ГМ-КСФ, М-КСФ с цитокинами плазмы крови у больных ХОБЛ

Цитокины	ГМ-КСФ, пг/мл	М-КСФ, пг/мл	ГМ-КСФ/М-КСФ
IL-4, пг/мл	$\rho=0,10$ ($p=0,4$)	$\rho=0,07$ ($p=0,6$)	$\rho=0,03$ ($p=0,8$)
IL-2, пг/мл	$\rho=-0,10$ ($p=0,9$)	$\rho=0,05$ ($p=0,6$)	$\rho=-0,04$ ($p=0,7$)
CXCL-10, пг/мл	$\rho=-0,01$ ($p=0,9$)	$\rho=0,11$ ($p=0,1$)	$\rho=-0,21$ ($p=0,5$)
IL-1 β , пг/мл	$\rho=0,09$ ($p=0,5$)	$\rho=0,15$ ($p=0,3$)	$\rho=0,15$ ($p=0,3$)
TNF- α , пг/мл	$\rho=-0,15$ ($p=0,9$)	$\rho=-0,12$ ($p=0,4$)	$\rho=0,01$ ($p=0,9$)
CCL2, пг/мл	$\rho=-0,01$ ($p=0,9$)	$\rho=-0,11$ ($p=0,4$)	$\rho=-0,04$ ($p=0,7$)
IL-17A, пг/мл	$\rho=-0,03$ ($p=0,8$)	$\rho=0,07$ ($p=0,7$)	$\rho=-0,06$ ($p=0,6$)
IL-6, пг/мл	$\rho=0,03$ ($p=0,8$)	$\rho=-0,15$ ($p=0,2$)	$\rho=0,15$ ($p=0,3$)
IL-10, пг/мл	$\rho=0,12$ ($p=0,8$)	$\rho=0,09$ ($p=0,5$)	$\rho=-0,02$ ($p=0,8$)
IFN- γ , пг/мл	$\rho=-0,01$ ($p=0,9$)	$\rho=0,13$ ($p=0,3$)	$\rho=-0,01$ ($p=0,9$)
IL-12p70, пг/мл	$\rho=0,003$ ($p=0,9$)	$\rho=-0,05$ ($p=0,8$)	$\rho=0,03$ ($p=0,7$)
IL-8, пг/мл	$\rho=0,05$ ($p=0,7$)	$\rho=0,12$ ($p=0,5$)	$\rho=0,08$ ($p=0,4$)
TGF- β 1, пг/мл	$\rho=-0,01$ ($p=0,9$)	$\rho=-0,03$ ($p=0,3$)	$\rho=0,14$ ($p=0,8$)

Таким образом, с целью оценки возможной роли колониестимулирующих факторов роста на развитие ХОБЛ нами были впервые проанализированы концентрации ГМ-КСФ и М-КСФ в плазме крови. Мы выявили повышение медианного значения ГМ-КСФ, хотя различия с контрольной группой были незначимы. Наши результаты согласуются данными с A. Mitra et al., изучавшими концентрацию сывороточного ГМ-КСФ у больных ХОБЛ и выявившими статистически значимое повышение данного фактора в основной группе по сравнению с группой контроля (курящие без бронхиальной обструкции) [5]. Необходимо отметить, что в мировой научной литературе встречаются исследования уровня ГМ-КСФ при ХОБЛ, также предлагается использовать его в качестве терапевтической мишени при данном заболевании [11]. На этом фоне, М-КСФ уделяется значительно меньше внимания и исследований, посвященных его вкладу в патогенез ХОБЛ, в доступной нам литературе не обнаружено. Выявлено, что у больных ХОБЛ отмечалось снижение уровня М-КСФ, регулирующего дифференцировку противовоспалительных макрофагов, что согласуется с представлениями о провоспалительной поляризации данных клеток при ХОБЛ.

Установленную корреляционную связь уровня ГМ-КСФ и содержания классических моноцитов у больных ХОБЛ можно объяснить избирательным влиянием фактора на пролиферацию данных клеток, обусловленную большей экспрессией рецепторов к ГМ-КСФ (CD116), по сравнению с промежуточными и неклассическими формами [14]. Неклассические моноциты, напротив, несут наибольшее количество рецепторов к М-КСФ (CD115) по сравнению с другими популя-

циями. Хотя корреляций числа неклассических моноцитов с уровнем М-КСФ не было найдено, низкий уровень М-КСФ согласуется со сниженным числом циркулирующих неклассических моноцитов у больных ХОБЛ, обнаруженным в нашем недавнем исследовании [15].

Мы не нашли корреляций ГМ- и М-КСФ с функцией внешнего дыхания у больных ХОБЛ. Тем не менее, как упоминалось выше, ГМ-КСФ имел прямую корреляцию с числом классических моноцитов, которые, в свою очередь, демонстрировали взаимосвязь с вентиляционными нарушениями. В то же время промежуточные моноциты, обратно коррелировавшие с ГМ-КСФ, наоборот, были ассоциированы с лучшей проходимость бронхов [15]. Косвенно установленное нами ранее негативное влияние ГМ-КСФ на вентиляционную функцию легких вполне согласуется с данными исследователей из Индии [5], которые выявили обратные корреляции между ОФВ₁, ОФВ₁/ФЖЕЛ и ГМ-КСФ.

Взаимосвязей между ГМ-КСФ, М-КСФ и системным уровнем различных цитокинов не было выявлено. Однако цитокиновый профиль пациентов с ХОБЛ в период ремиссии заболевания и во время обострения значительно отличался [13], поэтому в дальнейшем целесообразно будет оценить наличие аналогичных корреляций в период обострения заболевания. Другим объяснением выявленных фактов может служить то, что концентрации воспалительных маркеров измерялись в плазме крови, где их уровень исходно был невысок. В то же время локально, например, в дыхательных путях, взаимоотношения между компонентами цитокиновой сети могут быть более яв-

ными.

На результаты проведенного исследования мог повлиять ряд факторов: это и малое число наблюдений, и обнаруженные низкие уровни ГМ-КСФ. Дальнейшие работы целесообразно проводить на выборках большего размера, а также использовать более чувствительные методы анализа для точного определения концентрации колониестимулирующих факторов. Кроме того, уровни концентраций ГМ-КСФ и М-КСФ в легких могут существенно отличаться от концентраций в плазме крови и играть более важную роль в патогенезе ХОБЛ.

Заключение

Таким образом, мы установили снижение уровня М-КСФ в периферической крови у больных ХОБЛ, что характеризует хронически протекающее воспаление и способствует провоспалительной поляризации макрофагов. Несмотря на отсутствие значимых различий с группой контроля, у больных ХОБЛ концентрация ГМ-КСФ была связана с относительным увеличением популяции классических моноцитов, но снижением промежуточных форм, что может отражать разнонаправленность его влияния на дифференцировку моноцитов.

Интерес для дальнейших исследований представляет изучение механизмов регуляции продукции ГМ-КСФ и М-КСФ и их взаимосвязи с фенотипами альвеолярных макрофагов при ХОБЛ. Перспективно проведение сравнительного анализа системных уровней ГМ-КСФ и М-КСФ с концентрациями соответствующих медиаторов в респираторном тракте (бронхоальвеолярном лаваже или мокроте), а также поиск взаимосвязей их уровней с гуморальными и клеточными маркерами воспаления в дыхательных путях.

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. Rodríguez-Roisin R., Soriano J.B. Chronic obstructive pulmonary disease with lung cancer and/or cardiovascular disease // Proc. Am. Thorac. Soc. 2008. Vol.5, Iss.8. P.842–847. <https://doi.org/10.1513/pats.200807-075TH>
2. Boers E., Barrett M., Su J.G., Benjafield A.V., Sinha S., Kaye L., Zar H.J., Vuong V., Tellez D., Gondalia R., Rice M.B., Nunez C.M., Wedzicha J.A., Malhotra A. Global burden of chronic obstructive pulmonary disease through 2050 // JAMA Netw. Open. 2023. Vol.6, Iss.12. Article number:e2346598. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.46598>
3. Pandey R., Singh M., Singhal U., Gupta K.B., Aggarwal S.K. Oxidative/nitrosative stress and the pathobiology of chronic obstructive pulmonary disease // J. Clin. Diagn. Res. 2013. Vol.7, Iss.3. P.580–588. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/4360.2832>
4. Bailey K.L., Goraya J., Rennard S.L. The role of systemic inflammation in COPD // Respir. Med. 2012. Vol.2. P.15–30. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-673-3_2
5. Mitra A., Vishweswaraiah S., Thimraj T.A., Maheswarappa M., Krishnarao C.S., Sundararaja Lokesh K., Biligere Siddaiah J., Ganguly K., Anand M.P. Association of elevated serum GM-CSF, IFN- γ , IL-4, and TNF- α concentration with tobacco smoke induced chronic obstructive pulmonary disease in a south Indian population // Int. J. Inflam. 2018. Vol.2018. Article number:2027856. <https://doi.org/10.1155/2018/2027856>
6. Donnelly L.E., Barnes P.J. Defective phagocytosis in airways disease // Chest. 2012. Vol.141, Iss.4. P.1055–1062. <https://doi.org/10.1378/chest.11-2348>
7. Williams H., Mack C., Baraz R., Marimuthu R., Naralashetty S., Li S., Medbury H. Monocyte differentiation and heterogeneity: inter-subset and interindividual differences // Int. J. Mol. Sci. 2023. Vol.24, Iss.10. Article number:8757. <https://doi.org/10.3390/ijms24108757>
8. Kunz, L.I., Lapperre, T.S., Snoeck-Stroband, J.B. Budulac S.E., Timens W., van Wijngaarden S., Schruppf J.A., Rabe K.F., Postma D.S., Sterk P.J., Hiemstra P.S. Smoking status and anti-inflammatory macrophages in bronchoalveolar lavage and induced sputum in COPD // Respir. Res. 2011. Vol.12, Iss.1. Article number:34. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-12-34>
9. Skrzeczyńska-Moncznik J., Bzowska M., Loseke S., Grage-Griebenow E., Zembala M., Pryjma J. Peripheral blood CD14^{high} CD16⁺ monocytes are main producers of IL-10 // Scand. J. Immunol. 2008. Vol.67, Iss.2. P.152–159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2007.02051.x>
10. Italiani P., Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation // Front. Immunol. 2014. Vol.5. Article number:514. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514>
11. Vlahos R., Bozinovski S., Hamilton J.A., Anderson G.P. Therapeutic potential of treating chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by neutralising granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF) // Pharmacol. Ther.

2006. Vol.112, Iss.1. P.106–115. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.03.007>

12. 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>

13. Barta I., Paska C., Antus B. Sputum cytokine profiling in COPD: comparison between stable disease and exacerbation // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2022. Vol.17. P.1897–1908. <https://doi.org/10.2147/COPD.S364982>

14. 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. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2024-93-38-47>

15. Сугайло И.Ю., Наумов Д.Е., Котова О.О., Гассан Д.А., Горчакова Я.Г., Шелудько Е.Г. Характеристика субпопуляций моноцитов периферической крови больных хронической обструктивной болезнью легких // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. 2024. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-776>. URL: https://www.sibjcem.ru/jour/issue/view/Online_First

REFERENCES

1. Rodríguez-Roisin R., Soriano J.B. Chronic obstructive pulmonary disease with lung cancer and/or cardiovascular disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2008; 5(8):842–847. <https://doi.org/10.1513/pats.200807-075TH>

2. Boers E., Barrett M., Su J.G., Benjafield A.V., Sinha S., Kaye L., Zar H.J., Vuong V., Tellez D., Gondalia R., Rice M.B., Nunez C.M., Wedzicha J.A., Malhotra A. Global burden of chronic obstructive pulmonary disease through 2050. *JAMA Netw. Open.* 2023; 6(12):e2346598. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.46598>

3. Pandey R., Singh M., Singhal U., Gupta K.B., Aggarwal S.K. Oxidative/nitrosative stress and the pathobiology of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Clin. Diagn. Res.* 2013; 7(3):580–588. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/4360.2832>

4. Bailey K. L., Goraya J., Rennard S. L. The role of systemic inflammation in COPD. *Respir. Med.* 2012; 2:15–30. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-673-3_2

5. Mitra A., Vishweswaraiiah S., Thimraj T.A., Maheswarappa M., Krishnarao C.S., Sundararaja Lokesh K., Biligere Siddaiah J., Ganguly K., Anand M.P. Association of elevated serum GM-CSF, IFN- γ , IL-4, and TNF- α concentration with tobacco smoke induced chronic obstructive pulmonary disease in a south Indian population. *Int. J. Inflam.* 2018; 2018:2027856. <https://doi.org/10.1155/2018/2027856>

6. Donnelly L.E., Barnes P.J. Defective phagocytosis in airways disease. *Chest* 2012; 141(4):1055–1062. <https://doi.org/10.1378/chest.11-2348>

7. Williams H., Mack C., Baraz R., Marimuthu R., Naralashetty S., Li S., Medbury H. Monocyte differentiation and heterogeneity: inter-subset and interindividual differences. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(10):8757. <https://doi.org/10.3390/ijms24108757>

8. Kunz, L.I., Lapperre, T.S., Snoeck-Stroband, J.B. Budulac S.E., Timens W., van Wijngaarden S., Schruppf J.A., Rabe K.F., Postma D.S., Sterk P.J., Hiemstra P.S. Smoking status and anti-inflammatory macrophages in bronchoalveolar lavage and induced sputum in COPD. *Respir. Res.* 2011; 12(1): 34. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-12-34>

9. Skrzeczyńska-Moncznik J., Bzowska M., Loseke S., Grage-Griebenow E., Zembala M., Pryjma J. Peripheral blood CD14^{high} CD16⁺ monocytes are main producers of IL-10. *Scand. J. Immunol.* 2008; 67(2):152–159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2007.02051.x>

10. Italiani P., Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation *Front. Immunol.* 2014; 5:514. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00514>

11. Vlahos R., Bozinovski S., Hamilton J.A., Anderson G.P. Therapeutic potential of treating chronic obstructive pulmonary disease (COPD) by neutralising granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF). *Pharmacol. Ther.* 2006; 112(1):106–115. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.03.007>

12. 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>

13. Barta I., Paska C., Antus B. Sputum cytokine profiling in COPD: Comparison between stable disease and exacerbation. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2022; 17:1897–1908. <https://doi.org/10.2147/COPD.S364982>

14. 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]. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2024; (93):38–47 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2024-93-38-47>

15. Sugaylo I.Yu., Naumov D.E., Kotova O.O., Gassan D.A., Gorchakova Ya.G., Sheludko E.G. Characteristics of monocyte subpopulations in peripheral blood of the patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine* 2024 (in Russian). <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-776>. Available at: https://www.sibjcem.ru/jour/issue/view/Online_First

Информация об авторах:

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

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

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

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

Елизавета Григорьевна Шелудько, 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

Анастасия Андреевна Синюк, канд. мед. наук, врач клинической лабораторной диагностики, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»; e-mail: amur.asua@gmail.com

Author information:

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

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

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

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

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

Anastasia A. Sinyuk, PhD (Med.), Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Junior Staff Scientist, Laboratory of Molecular and Translational Research, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration; e-mail: amur.asua@gmail.com

Поступила 30.09.2024
Принята к печати 30.10.2024

Received September 30, 2024
Accepted October 30, 2024
