

УДК 577.21:576.385(616.24-008.811.6:613.84)

DOI: 10.36604/1998-5029-2025-97-8-24

## АНАЛИЗ РАННИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ХОБЛ, ПУТЕМ ТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ КЛЕТОК А549 В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*

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

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

**РЕЗЮМЕ. Введение.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – распространенное заболевание с высокой социальной значимостью, в патогенезе которого существенную роль может играть реакция альвеолярного эпителия на сигаретный дым. **Цель.** Комплексная характеристика транскриптомных изменений в клетках А549, возникающих в ответ на действие экстракта сигаретного дыма (ЭСД), включая анализ дифференциальной экспрессии генов и ключевых сигнальных путей, с оценкой их потенциальной роли в развитии патологического процесса при ХОБЛ. **Материалы и методы.** Клетки А549 выращивали в среде DMEM до 80% конфлюэнтности, а затем инкубировали с 5% ЭСД или в контрольных условиях в течение 24 часов (n = 3 на каждое условие). Выделенную тотальную РНК подвергали обогащению для получения мРНК. Секвенирование выполняли на секвенаторе MGISEQ-200 в режиме SE50. Обработка данных включала картирование прочтений (Salmon), анализ дифференциальной экспрессии (DESeq2) и функционального обогащения генов (Cytoscape). **Результаты.** Действие ЭСД сопровождалось признаками дезорганизации актинового цитоскелета (ингибиция Rho ГТФаз, даунрегуляция ACTB) и стресса эндоплазматического ретикулума с парадоксальной активацией mTORC1 сигналинга на фоне давления транскрипции, пролиферации и апоптоза, что в совокупности может быть охарактеризовано как метаболически активный клеточный стазис. Одновременно с этим отмечалось усиление протеасомной деградации и антигенной презентации собственных, вероятно, дефектных белков с целью стимуляции иммунологического надзора. В то время как провоспалительный сигналинг, в целом, был ослаблен, увеличивалась экспрессия IL1A, SPP1 и CSF3, что может способствовать привлечению и активации нейтрофилов, макрофагов и моноцитов *in vivo*. Предполагаемые нарушения эфферацитоза (за счет апрегуляции ANXA5) и индукции апоптоза цитотоксическими Т-клетками (вследствие нарушения эндоцитоза гранзимов и ингибиции каспаз) могут приводить к формированию хронического воспаления с аутоиммунным компонентом. **Заключение.** Активация mTORC1 сигналинга и презентации аутоантигенов на фоне стресса эндоплазматического ретикулума, а также потенциальное снижение способности цитотоксических Т-клеток вызывать апоптоз, может являться ключевыми механизмами патогенеза ХОБЛ, опосредующими повреждение альвеолярного эпителия под действием сигаретного дыма.

**Ключевые слова:** ХОБЛ, секвенирование РНК, NGS, эпителий, А549, экстракт сигаретного дыма, экспрессия генов.

## ANALYSIS OF EARLY MOLECULAR CHANGES ASSOCIATED WITH COPD VIA TRANSCRIPTOMIC PROFILING OF A549 CELLS IN AN *IN VITRO* EXPERIMENT

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

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

**SUMMARY. Introduction.** Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common condition of high social

### Контактная информация

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

### Correspondence should be addressed to

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

### Для цитирования:

Наумов Д.Е., Котова О.О., Гассан Д.А., Сугайло И.Ю. Анализ ранних молекулярных изменений, ассоциированных с ХОБЛ, путем транскриптомного профилирования клеток А549 в эксперименте *in vitro* // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2025. Вып.97. С.8–24. DOI: 10.36604/1998-5029-2025-97-8-24

### For citation:

Naumov D.E., Kotova O.O., Gassan D.A., Sugaylo I.Yu. Analysis of early molecular changes associated with COPD via transcriptomic profiling of A549 cells in an *in vitro* experiment. *Bulleten' fiziolii i patologii dyhaniya* = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration 2025; (97):8–24 (in Russian). DOI: 10.36604/1998-5029-2025-97-8-24

importance, in which the response of alveolar epithelium to cigarette smoke may play a critical role in disease pathogenesis. **Aim.** To comprehensively characterize transcriptomic alterations in A549 cells in response to cigarette smoke extract (CSE), including differential gene expression and key signaling pathways, and to evaluate their potential contribution to pathological processes associated with COPD. **Materials and methods.** A549 cells were cultured in DMEM until reaching 80% confluence, then incubated with 5% CSE or maintained under control conditions for 24 hours (n = 3 per group). Total RNA was extracted and enriched for mRNA. Sequencing was performed on the MGISEQ-200 platform in SE50 mode. Data analysis included read mapping (*Salmon*), differential gene expression analysis (*DESeq2*), and functional enrichment (*Cytoscape*). **Results.** CSE exposure was associated with signs of actin cytoskeleton disorganization (Rho GTPase inhibition, *ACTB* downregulation) and endoplasmic reticulum stress, along with paradoxical activation of mTORC1 signaling amid suppression of transcription, proliferation, and apoptosis – a combination that may represent a state of metabolically active cellular stasis. Concomitantly, proteasomal degradation and antigen presentation of likely defective self-proteins were enhanced, possibly promoting immune surveillance. While proinflammatory signaling was generally attenuated, increased expression of *IL1A*, *SPP1* and *CSF3* may facilitate recruitment and activation of neutrophils, macrophages, and monocytes. Impaired efferocytosis (via upregulation of *ANXA5*) and defective apoptosis induction by cytotoxic T cells (due to disrupted granzyme endocytosis and inhibition of caspases) may lead to persistent inflammation with an autoimmune component. **Conclusion.** Activation of mTORC1 signaling and autoantigen presentation under endoplasmic reticulum stress, as well as a potential reduction in the ability of cytotoxic T cells to induce apoptosis, may represent key pathogenic mechanisms of COPD, mediating alveolar epithelial injury induced by cigarette smoke.

*Key words:* COPD, RNA-seq, NGS, epithelium, A549 cells, cigarette smoke extract, gene expression.

Несмотря на прогресс в понимании молекулярных механизмов и успехи в диагностике и лечении, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) продолжает занимать ведущие позиции по показателям распространенности (среди хронических респираторных заболеваний) и смертности (среди всех причин). Абсолютные показатели свидетельствуют, что за прошедшие три десятилетия (с 1990 по 2021 гг.) бремя заболевания заметно возросло: распространенность увеличилась со 100,54 млн до 213,36 млн, смертность – с 2,5 млн до 3,72 млн случаев в год, показатель лет жизни скорректированных по нетрудоспособности (DALY) – с 56,86 млн до 79,78 млн [1].

На сегодняшний день хорошо известна центральная роль сигаретного дыма и пылевых частиц в иницииации и поддержании патологических процессов, лежащих в основе формирования ХОБЛ. Попадая в дыхательные пути, они в первую очередь вступают в контакт с эпителиальными клетками бронхов и альвеол, а также клетками иммунной системы – макрофагами и дендритными клетками. Клеткам альвеолярного эпителия II типа (AT2), также называемым альвеолоцитами или пневмоцитами, отводится особая роль в патогенезе ХОБЛ. Они составляют большую часть эпителия альвеол и выполняют ряд важных функций: вырабатывают сурфактант, снижающий поверхностное натяжение и предотвращающий коллапс альвеол при выдохе, обеспечивают неспецифическую иммунную защиту, а также восстановление повреждений, демонстрируя высокий пролиферативный потенциал и являясь предшественниками альвеолоцитов I типа, покрывающих большую часть площади альвеол [2]. Установлено, что при ХОБЛ отмечается снижение способности AT2 клеток к пролиферации, что вносит вклад в нарушение процессов регенерации и приводит к развитию эмфиземы [3]. Также показано, что ХОБЛ может сопровождаться нарушением дифференцировки

альвеолоцитов I типа, возникающим вследствие воздействия на клетки пылевых частиц PM2.5 [4]. Кроме того, проведенный метаанализ результатов секвенирования единичных клеток больных ХОБЛ позволил установить, что наибольший вклад в наследуемость заболевания (по данным полногеномных ассоциативных исследований) вносят гены, специфично экспрессируемые моноцитами, тучными клетками и AT2 клетками [5]. Необходимо отметить, что первичные AT2 сложны для выделения и культивирования, по данной причине в экспериментах *in vitro* в качестве аналога часто используется опухолевая линия клеток A549 [6].

Принимая во внимание немногочисленность работ, изучавших транскриптомные изменения в AT2 клетках для уточнения их роли в патогенезе ХОБЛ, целью настоящего исследования была комплексная характеристика транскриптомных изменений в клетках A549, возникающих в ответ на действие экстракта сигаретного дыма (ЭСД), включая анализ дифференциальной экспрессии генов и ключевых сигнальных путей, с оценкой их потенциальной роли в развитии патологического процесса при данном заболевании.

#### Материалы и методы исследования

Клетки A549 (ООО «Биолот», Россия) выращивали в 12-луночном планшете в среде DMEM (Biowest, Франция) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ООО «Биолот», Россия), 100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина до достижения конфлюэнтности 80%. После этого в три лунки с клетками добавляли 5% ЭСД и выдерживали в течение суток. Дополнительные три лунки оставались интактными и служили в качестве контрольных. После окончания инкубации клетки открепляли 0,5% раствором коллагеназы (ООО «Биолот», Россия), отмывали, растворяли в RTL-буфере (Magen, КНР) и замораживали при -80°C.

ЭСД получали по следующей методике. Дым двух сигарет марки «Winston Blue» с фильтром (содержание смолы – 6 мг, никотина – 0,5 мг,monoоксида углерода – 6 мг), аспирируемый с помощью шприцевого насоса со скоростью 8 л/час, пропускали через 20 мл среды DMEM, нагретой до температуры 37°C. Величину pH полученного ЭСД доводили до нейтрального значения, после чего стерилизовали фильтрованием через нейлоновый фильтр с диаметром пор 0,2 мкм, замораживали при -80°C и хранили в течение 1 недели до проведения эксперимента. Концентрацию исходного ЭСД принимали за 100%.

Тотальную РНК выделяли коммерческими наборами HiPure Total RNA Kit (Magen, КНР) согласно протоколу производителя. Концентрации РНК и ДНК определяли на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием оригинальных наборов реагентов. Качество полученной РНК оценивали с помощью микрочипового электрофореза на системе MCE-202 MultiNA (Shimadzu, Япония). Процедуру обогащения мРНК проводили наборами VAHTS mRNA Capture Beads (Vazyme, КНР), для подготовки библиотек использовали наборы MGIEasy RNA Library Prep Set (MGI Tech, КНР). Секвенирование мРНК выполняли на полногеномном секвениаторе MGISEQ-200/DNBSEQ-G50 (MGI Tech, КНР) в режиме SE50.

В результате секвенирования 6 образцов было получено 168,7 млн прочтений (Q30 – 85%). Анализ качества полученных прочтений проводили в программном обеспечении FastQC v0.12.1. Карттирование прочтений на референсный транскрипт T2T-CHM13v2.0 и подсчет числа транскриптов выполняли с помощью программного обеспечения Salmon v1.10.1. Последующую обработку данных проводили в среде R (R Foundation for Statistical Computing, Австрия) с ис-

пользованием пакетов: tximport v1.28.0 – для сортировки импортируемых транскриптов по генам, DESeq2 v1.40.2 – для анализа дифференциальной экспрессии генов, ggplot2 v3.4.2 и EnhancedVolcano v1.18.0 – для генерации диаграмм. Дифференциально экспрессированными считали гены, уровень значимости различий для которых после коррекции на множественные сравнения (FDR) составлял <0,05. Кратность изменений экспрессии выражали в виде двоичного логарифма соответствующего значения (Log2 fold change, Log2FC). С целью функциональной интерпретации данных при помощи программного пакета ClueGO v2.5.10 для платформы Cytoscape v3.10.3 проводили анализ обогащения генов с повышенной (апрегулированных) и пониженной (даунрегулированных) экспрессией по категориям баз данных Gene Ontology (GO), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) и Reactome. В качестве FDR-корректированного порогового уровня значимости (p), свидетельствующего о достоверном обогащении категории генной онтологии, принимали значение 0,05. Узловые (hub) гены, играющие ключевую роль, выявляли с помощью программного пакета cytoHubba v0.1 для платформы Cytoscape, предварительно построив сеть генных взаимодействий с помощью базы данных STRING (string-db.org).

### Результаты исследования и их обсуждение

Анализ главных компонент позволил выявить, что один из образцов, подвергнутых действию ЭСД, сильно отличался от двух других по общему профилю экспрессии генов (рис. 1а). По данной причине было принято решение исключить его из дальнейшего анализа. После этого, образцы распределились следующим образом (рис. 1б).

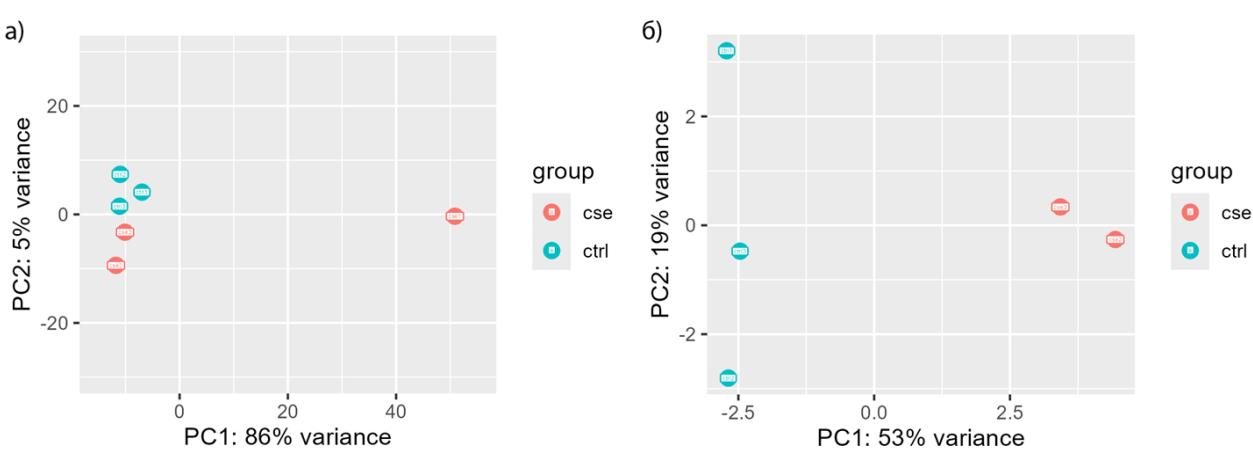


Рис. 1. Анализ главных компонент: распределение контрольных образцов (ctrl) и клеток, экспонированных с ЭСД (cse), в координатах двух главных компонент PC1 и PC2; а) – анализ всех образцов, б) – анализ после исключения выброса.

В результате анализа транскриптомных изменений, происходящих в клетках в ответ на действие ЭСД, было выявлено 548 дифференциально экспрессирован-

ных генов, из них 168 находились в состоянии апрегуляции и 380 – в состоянии даунрегуляции (рис. 2). При этом амплитуда изменений экспрессии была незначи-

тельной: лишь 11 генов демонстрировали снижение экспрессии в 2 и более раз, экспрессия прочих изменя-

лась в меньшей степени.

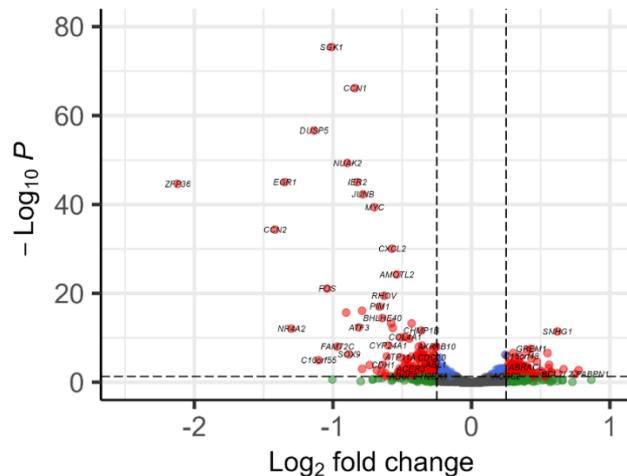


Рис. 2. Визуализация дифференциально экспрессированных генов в клетках А549 на фоне ЭСД на диаграмме Volcano plot.

Ориентируясь на перечень из десяти наиболее значимо апрегулированных генов (табл. 1), можно сделать вывод, что ЭСД вызывал компенсаторную активацию молекулярных механизмов, ответственных за детоксикацию ксенобиотиков (*CYP1B1*), защиту от окислительного повреждения (*SQOR*) и воспаления (*TSC22D3*). Кроме того, в клетках происходила перестройка посттранскрипционной регуляции (*R3HCC1L*), утилизация поврежденных белков (*UBC*), активация энергетического метаболизма (*COXFA4L3*) и везику-

лярного транспорта (*SEC22B*), адаптивная попытка ограничить биосинтез холестерина (*INSIG1*). Обнаруженное увеличение экспрессии *SNHG1* может быть специфическим признаком клеток А549, учитывая их опухолевую природу, и направлено на повышение выживаемости. Вместе с тем, ингибирование BMP (bone morphogenetic proteins)-сигналинга на фоне апрегуляции *GREM1* также может служить компенсаторным фактором, поддерживающим пролиферацию и дифференцировку AT2 клеток [7].

**Гены, экспрессия которых наиболее значимо увеличивается в ответ на экспозицию с ЭСД**

Ген	Log2FC	FDR-p	Краткая функциональная характеристика
<i>SNHG1</i>	0,62	$3,77 \times 10^{-12}$	длинная некодирующая РНК, способствует опухолевой прогрессии
<i>GREM1</i>	0,43	$3,02 \times 10^{-8}$	белок гремлин 1, ингибитор BMP-сигналинга, может способствовать фиброзу
<i>CYP1B1</i>	0,40	$6,22 \times 10^{-8}$	фермент семейства цитохромов Р450, обеспечивает метаболизм ксенобиотиков
<i>SQOR</i>	0,30	$2,62 \times 10^{-7}$	сульфид:хинон оксидоредуктаза – митохондриальный фермент принимающий участие в метаболизме сероводорода
<i>R3HCC1L</i>	0,55	$2,74 \times 10^{-7}$	РНК-связывающий белок, содержащий R3H домен и мотив «скрученная спираль» – функция слабо изучена
<i>UBC</i>	0,24	$6,20 \times 10^{-7}$	убиквитин С, связывается с белками, приводя к их деградации
<i>INSIG1</i>	0,25	$8,96 \times 10^{-7}$	инсулин индуцируемый ген 1, эндоплазматический белок, опосредованно тормозит биосинтез холестерина
<i>COXFA4L3</i>	0,35	$1,26 \times 10^{-6}$	вспомогательный белок комплекса IV дыхательной цепи митохондрий
<i>SEC22B</i>	0,31	$3,09 \times 10^{-6}$	белок везикулярного транспорта
<i>TSC22D3</i>	0,43	$4,87 \times 10^{-6}$	белок с сильными противоспалительными свойствами, индуцируемый глюокортикоидами и интерлейкином (IL)-10

В свою очередь, даунрегулированные гены (табл. 2) свидетельствовали о серьезном нарушении процессов репарации, связанных с пролиферацией и дифференцировкой клеток альвеолярного эпителия (*HES1*, *SGK1*, *CCN1*, *NUAK2*, *EGR1*, *IER2*). Дополнительно, отмеча-

лась дизрегуляция воспалительного ответа, заключающаяся, с одной стороны, в его ингибиции (*NR4A1*), но с другой стороны – потенциально сопровождаемая активацией МАР-киназ (*DUSP1*, *DUSP5*) и увеличением продукции цитокинов (*ZFP36*).

Гены, экспрессия которых наиболее значительно снижается в ответ на экспозицию с ЭСД

Ген	Log2FC	FDR-p	Краткая функциональная характеристика
<i>NR4A1</i>	-2,96	$1,05 \times 10^{-215}$	проводоспалительный ядерный транскрипционный фактор, опосредует липополисахарид-индуцированный некроптоз в АТ2
<i>DUSP1</i>	-1,54	$4,72 \times 10^{-131}$	фосфатаза, снижает активность МАР (mitogen-activated protein)-киназ
<i>HES1</i>	-2,20	$5,78 \times 10^{-131}$	транскрипционный фактор, принимающий участие в регенерации эпителия
<i>SGK1</i>	-1,00	$3,77 \times 10^{-76}$	протеинкиназа, участвует в поддержании пролиферации и структурной целостности эпителия
<i>CCN1</i>	-0,84	$6,99 \times 10^{-67}$	секретируемый белок, стимулирующий пролиферацию, дифференцировку, образование внеклеточного матрикса
<i>DUSP5</i>	-1,13	$2,35 \times 10^{-57}$	фосфатаза, снижает активность МАР-киназ
<i>NUAK2</i>	-0,89	$4,68 \times 10^{-50}$	протеинкиназа, участвует в поддержании пролиферации и структурной целостности эпителия
<i>EGR1</i>	-1,34	$9,68 \times 10^{-46}$	транскрипционный фактор, регулирующий пролиферацию и дифференцировку клеток
<i>IER2</i>	-0,82	$9,68 \times 10^{-46}$	транскрипционный фактор, активирует деление и подвижность клеток
<i>ZFP36</i>	-2,12	$2,36 \times 10^{-45}$	тристетрапролин, подавляет экспрессию мРНК провоспалительных цитокинов

С целью комплексного осмысления происходящих биологических процессов был проведен анализ обогащения категорий GO ап- и даунрегулированными генами. Дополнительно, для снижения размерности данных, была использована кластеризация схожих по смыслу категорий, реализованная в программном обеспечении *clueGO*. Кроме этого, полученные ключевые категории GO были вручную сгруппированы на основании их функциональной взаимосвязи и общего биологического контекста (табл. 3). В результате было установлено, что действие ЭСД на эпителий, прежде всего, приводит к выраженным нарушениям пролиферации и дифференцировки клеток, нарушению их пространственной организации, миграции, и способности адекватно реагировать на стрессовые условия. Тем не менее, апоптоз, по-видимому, также ингибирился, что могло свидетельствовать о развитии клеточного стазиса. Кроме того, отмечались признаки стресса эндоплазматического ретикулума (ЭПР), при этом белки, имеющие различные дефекты (нарушение фолдинга, модификации компонентами ЭСД, активными формами кислорода и азота) локализуются преимущественно в ЭПР, но не в ядре или на периферии клетки. Интересно что, несмотря на подавление транскрипции, трансляция оставалась парадоксально активированной,

что можно расценивать как предпосылку для хронизации ЭПР-стресса. На этом фоне возрастает интенсивность продукции АТФ и липидов, что, вероятно, обусловлено повышенной потребностью в энергии для синтеза и рефолдинга белков, попыткой восстановить образующиеся дефекты клеточных мембран и увеличить объем ЭПР для посттрансляционной обработки белков. Наконец, неправильная сборка и аномальные модификации белков, а также компоненты ЭСД во внеклеточной среде, вероятно, активируют процессинг и презентацию антигенов, что преследует цель усилить иммунный надзор и активизировать нейтрализацию цитотоксическими Т-клетками потенциально нежизнеспособных эпителиальных клеток, которые не могут самостоятельно запустить апоптоз. Однако подавление генов, вовлеченных в апоптоз, и нарушение организации актинового цитоскелета увеличивает вероятность того, что в результате атаки цитотоксических клеток будет возникать некротическое повреждение с выбросом молекул DAMP (damage-associated molecular patterns – молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением), провоцирующих выраженный воспалительный ответ, в том числе АТФ и IL-1 $\alpha$ , продукция которых повышена под действием ЭСД [8].

Таблица 3

**Категории GO, обогащенные ап- или даунрегулированными генами, сгруппированные по ключевым биологическим эффектам**

Группа	Категории, обогащенные апрегулированными генами
Синтез белков	Цитоплазматическая трансляция ( $p = 3,81 \times 10^{-4}$ ), гомотетрамеризация белков ( $p = 2,14 \times 10^{-2}$ ), поддержание локализации белка в клетке ( $p = 1,83 \times 10^{-2}$ ), локализация белка в ЭПР ( $p = 3,76 \times 10^{-3}$ ), отрицательная регуляция протеолиза ( $p = 2,97 \times 10^{-3}$ )
Активация липидного и энергетического обмена	$\beta$ -окисление жирных кислот ( $p = 8,87 \times 10^{-3}$ ), регуляция биосинтеза жирных кислот ( $p = 1,41 \times 10^{-2}$ ), биосинтез холестерина ( $p = 2,05 \times 10^{-2}$ ), катаболизм гексоз ( $p = 1,83 \times 10^{-2}$ ), положительная регуляция локализации липидов ( $p = 7,41 \times 10^{-3}$ )
Процессинг и презентация антигенов	Активность связанных с АТФазой трансмембранных переносчиков одновалентных катионов ( $p = 1,65 \times 10^{-2}$ ), нуклеация актина, опосредованная комплексом Агр2/3 ( $p = 4,47 \times 10^{-3}$ ), процессинг и презентация экзогенных антигенов ( $p = 4,42 \times 10^{-3}$ )
Категории без смысловой группировки	Организация коллагеновых фибрill ( $p = 1,89 \times 10^{-2}$ ), агрегация тромбоцитов ( $p = 3,81 \times 10^{-3}$ ), биосинтез оксида азота ( $p = 8,88 \times 10^{-3}$ )
Группа	Категории, обогащенные даунрегулированными генами
Нарушение пролиферации и дифференцировки	Ответ на эпидермальный фактор роста ( $p = 2,95 \times 10^{-4}$ ), развитие почек ( $p = 8,30 \times 10^{-4}$ ), развитие кожи ( $p = 5,40 \times 10^{-4}$ ), дифференцировка миобластов ( $p = 3,66 \times 10^{-4}$ ), регуляция пролиферации клеток ( $p = 2,21 \times 10^{-9}$ ), регуляция дифференцировки остеобластов ( $p = 3,96 \times 10^{-4}$ ), регуляция пролиферации фибробластов ( $p = 1,45 \times 10^{-4}$ ), пролиферация мышечных клеток ( $p = 1,11 \times 10^{-5}$ ), регуляция роста на этапах онтогенеза ( $p = 2,10 \times 10^{-4}$ ), формирование тканей ( $p = 2,48 \times 10^{-10}$ ), морфогенез органов у животных ( $p = 1,04 \times 10^{-5}$ ), эмбриональное развитие плаценты ( $p = 4,60 \times 10^{-5}$ ), формирование мышечных структур ( $p = 1,39 \times 10^{-8}$ ), ответ на фактор роста ( $p = 5,99 \times 10^{-9}$ ), регуляция процессов развития ( $p = 1,45 \times 10^{-11}$ ), реакция на повреждение ( $p = 3,31 \times 10^{-6}$ )
Нарушение транскрипции	Активность коактиваторов транскрипции ( $p = 1,45 \times 10^{-6}$ ), активность корепрессоров транскрипции ( $p = 3,89 \times 10^{-4}$ ), регуляция транскрипции РНК полимеразой I ( $p = 2,20 \times 10^{-4}$ ), регуляция метаболизма микроРНК ( $p = 4,52 \times 10^{-7}$ ), организация хроматина ( $p = 2,79 \times 10^{-7}$ ), положительная регуляция транскрипции РНК полимеразой ( $p = 1,27 \times 10^{-8}$ ), положительная регуляция метаболизма РНК ( $p = 8,07 \times 10^{-12}$ )
Трансляция дефектных белков	Локализация белков на периферии клетки ( $p = 7,93 \times 10^{-4}$ ), положительная регуляция катаболических процессов ( $p = 1,97 \times 10^{-4}$ ), фосфорилирование ( $p = 4,45 \times 10^{-5}$ ), положительная регуляция ядерной локализации белка ( $p = 3,65 \times 10^{-5}$ ), отрицательная регуляция биосинтеза макромолекул ( $p = 4,21 \times 10^{-11}$ )
Нарушение пространственной самоорганизации	Формирование полярности клеток ( $p = 2,10 \times 10^{-4}$ ), организация актинового цитоскелета ( $p = 7,09 \times 10^{-5}$ ), амебоподобное передвижение клеток ( $p = 7,51 \times 10^{-4}$ ), регуляция клеточной адгезии ( $p = 3,50 \times 10^{-9}$ ), организация внеклеточного матрикса ( $p = 8,72 \times 10^{-4}$ )
Нарушение адаптивного ответа на стрессовые условия	Реакция на голодание ( $p = 6,21 \times 10^{-4}$ ), реакция на гипоксию ( $p = 3,70 \times 10^{-7}$ ), клеточный ответ на эндогенный стимул ( $p = 9,56 \times 10^{-8}$ )
Цитостазис	Программируемая клеточная гибель ( $p = 1,19 \times 10^{-10}$ ), регуляция клеточного цикла ( $p = 7,59 \times 10^{-6}$ )

Дополнительно, аналогичным образом мы провели анализ обогащения категорий Reactome и KEGG для ап- и даунрегулированных генов (табл. 4, 5). Основные результаты повторяли особенности, обнаруженные нами в ходе анализа обогащения категорий GO, тем не менее, удалось выделить отдельные сигнальные пути, изменение активности которых объясняет наблюдаемые биологические процессы. Так, повышенная мета-

болическая активность в аспекте биосинтеза белков (включая биогенез рибосом), липидов, а также синтеза АТФ различными путями, вероятно, обусловлена сигналингом mTOR, а именно – комплексом mTORC1 [9]. Активность mTORC1, учитывая ранее отмеченное нарушение пролиферации и транскрипции, можно считать аномальной, но она согласуется с результатами некоторых работ, указывающих на стимулирующий

эффект компонентов сигаретного дыма в отношении данного сигнального пути [10], и может быть ассоциирована с клеточным старением [11]. Некоторые исследователи ранее также отмечали активацию сборки рибосом в клетках больных ХОБЛ [12], однако остается неизвестным, сопровождается ли данный феномен какими-либо прямыми патологическими эффектами или исключительным образом отражает повышенную потребность клетки в синтезе определенных белков, например, белков-шаперонов, позволяющих справляться с ЭПР-стрессом на фоне действия ЭСД. Сигнalling mTORC1, а также компоненты сигаретного дыма способны приводить к активации транскрипционных

факторов семейства PPAR, играющих важную роль в метаболизме липидов [13, 14], в том числе в липогенезе, транспорте, окислении в пероксисомах и митохондриях, превращении в ацил-КоА и во многих других процессах [15]. Как уже упоминалось, перечисленная совокупность факторов также приводит к увеличению активности митохондрий с активизацией синтеза АТФ. Примечательно, что ранее мы действительно обнаруживали повышенное содержание АТФ в мононуклеарах больных ХОБЛ [16], что дополнительно подчеркивает соответствие *in vitro* модели особенностям патологии *in vivo*, несмотря на различия в типах исследуемых клеток.

Таблица 4

Категории Reactome и KEGG, обогащенные апрегулированными генами, сгруппированные по ключевым биологическим эффектам

Группа	Категории Reactome	Категории KEGG
Активация липидного и энергетического обмена	Импорт белка в пероксисомы ( $p = 2,60 \times 10^{-2}$ ), биогенез митохондрий ( $p = 4,75 \times 10^{-3}$ ), регуляция биосинтеза холестерина с помощью SREBP (SREBF) ( $p = 1,94 \times 10^{-2}$ ), регуляция mTORC1 аминокислотами ( $p = 1,94 \times 10^{-2}$ )	Сигнальный путь PPAR ( $p = 1,06 \times 10^{-2}$ ), метаболизм пирувата ( $p = 5,50 \times 10^{-3}$ )
Синтез и утилизация белков	Формирование пула свободных 40S субъединиц рибосом ( $p = 9,08 \times 10^{-8}$ ), регуляция mTORC1 аминокислотами ( $p = 1,94 \times 10^{-2}$ )	Сборка протеасом ( $p = 1,44 \times 10^{-2}$ ), протеолиз, опосредованный убиквитином ( $p = 6,49 \times 10^{-3}$ )
Процессинг и презентация антигенов	Rho ГТФазы активируют WASPs и WAVEs ( $p = 8,54 \times 10^{-3}$ )	Процессинг и презентация антигенов ( $p = 3,78 \times 10^{-3}$ )
Дизрегуляция актиновой сети филаментов	Rho ГТФазы активируют WASPs и WAVEs ( $p = 8,54 \times 10^{-3}$ ), регуляция экспрессии SLITs и ROBOs ( $p = 3,75 \times 10^{-8}$ )	-
Категории без смысловой группировки	Экспрессия генов и белков, зависящая от JAK-STAT сигнallingа под действием IL-12 ( $p = 1,25 \times 10^{-3}$ )	Коронавирусная инфекция ( $p = 3,10 \times 10^{-5}$ ), ревматоидный артрит ( $p = 1,72 \times 10^{-2}$ )

Как и в случае анализа обогащения категорий GO, были найдены признаки активной протеасомной деградации белков, вероятно, поврежденных и неправильно свернутых. По всей видимости, наблюдаемое состояние можно расценивать как ЭПР-стресс, который действительно возникает в клетках на фоне активации mTORC1 под действием ЭСД и характерен для ХОБЛ [17]. При этом адаптивная реакция на наличие дефектных белков представляется неполноценной, о чем свидетельствуют продолжающаяся активная трансляция и биогенез рибосом. Апоптоз также был ингибирован, что могло указывать на умеренный характер остро протекающего ЭПР-стресса.

Были получены подтверждения активации процессинга и презентации антигенов под действием ЭСД.

Определенную роль в данном процессе может играть нуклеация (ветвление) актина, опосредованная белковым комплексом Arp2/3 и регулируемая белками WASP и WAVE. Известно, что нуклеация актина важна для формирования различных мембранных прорезей, а также имеет важное значение для эндоцитоза и создания иммунологических синапсов [18, 19]. Имеющиеся в настоящее время данные о влиянии ЭПР-стресса на презентацию антигенов противоречивы и ограничены специализированными клетками иммунной системы [20, 21], при этом хорошо известно, что ХОБЛ характеризуется наличием аутоиммунного компонента, опосредованного, прежде всего, CD8<sup>+</sup> цитотоксическими Т-клетками, вероятно, вызывающими деструкцию альвеол с формированием эмфиземы [22].

Таблица 5

Категории Reactome и KEGG, обогащенные даунрегулированными генами, сгруппированные по  
ключевым биологическим эффектам

Группа	Категории Reactome	Категории KEGG
Нарушение пролиферации, дифференцировки и выживаемости	Сигнальная трансдукция ( $p = 3,66 \times 10^{-10}$ ), сигналинг цитокинов семейства IL-6 ( $p = 1,00 \times 10^{-3}$ ), цикл ГТФазы RND2 ( $p = 6,21 \times 10^{-3}$ ), развитие меланоцитов, регулируемое MITF-M ( $p = 2,61 \times 10^{-3}$ ), сигналинг IL-4 и IL-13 ( $p = 2,54 \times 10^{-3}$ ), сигналинг нерецепторных тирозинкиназ ( $p = 4,37 \times 10^{-3}$ ), заболевания, связанные с нарушением сигнальной трансдукции через рецепторы факторов роста и вторичные посредники ( $p = 8,15 \times 10^{-7}$ ), активация MAPK1/3, независимая от RAF ( $p = 8,36 \times 10^{-4}$ ), сигналинг рецепторных тирозинкиназ ( $p = 1,49 \times 10^{-10}$ ), внутриклеточный домен NOTCH1 регулирует транскрипцию ( $p = 1,61 \times 10^{-4}$ )	Сигналинг Hippo ( $p = 3,87 \times 10^{-3}$ ), сигналинг PI3K-Akt ( $p = 3,20 \times 10^{-3}$ ), сигналинг Notch ( $p = 6,80 \times 10^{-4}$ ), сигналинг TGF-β ( $p = 1,36 \times 10^{-3}$ ), сигналинг Apelin ( $p = 2,02 \times 10^{-3}$ ), сигналинг тиреоидных гормонов ( $p = 8,16 \times 10^{-4}$ ), синтез, секреция и эффект паратиреоидного гормона ( $p = 1,83 \times 10^{-5}$ ), сигналинг JAK-STAT ( $p = 1,48 \times 10^{-4}$ ), протеогликаны, связанные с раком ( $p = 2,73 \times 10^{-4}$ )
Нарушение адгезии и структурной организации клеток	Сигнальная трансдукция ( $p = 3,66 \times 10^{-10}$ ), гемостаз ( $p = 7,98 \times 10^{-3}$ ), путь повторного использования L1 ( $p = 9,80 \times 10^{-3}$ ), взаимодействия белков семейства нефрина ( $p = 8,36 \times 10^{-4}$ ), сигналинг с участием Rho ГТФаз ( $p = 1,44 \times 10^{-4}$ ), неинтегриновое взаимодействие мембранные с внеклеточным матриксом ( $p = 1,56 \times 10^{-4}$ ), фагоцитоз, зависящий от Fc-гамма рецепторов ( $p = 8,51 \times 10^{-4}$ )	Фокальные контакты ( $p = 2,09 \times 10^{-5}$ ), адгезивные контакты ( $p = 4,54 \times 10^{-5}$ )
Нарушение транскрипции	Экспрессия генов (транскрипция) ( $p = 5,22 \times 10^{-5}$ )	Нарушение транскрипции при раке ( $p = 7,21 \times 10^{-3}$ )
Нарушение апоптоза	TP53 регулирует экспрессию генов клеточного цикла ( $p = 6,79 \times 10^{-4}$ )	Сигнальный путь p53 ( $p = 5,85 \times 10^{-4}$ ), сигнальный путь TNF ( $p = 1,97 \times 10^{-3}$ ), сигнальный путь FoxO ( $p = 5,46 \times 10^{-5}$ )
Нарушение ответа на микробные патогены	Прикрепление и проникновение в клетку респираторно-синцитиального вируса ( $p = 4,76 \times 10^{-3}$ )	Бактериальная инвазия в эпителиальных клетках ( $p = 2,06 \times 10^{-3}$ ), инфекция, вызванная патогенной <i>E. coli</i> ( $p = 3,49 \times 10^{-3}$ )
Категории без смысловой группировки	Клеточный ответ на гипоксию ( $p = 6,39 \times 10^{-3}$ )	Сигналинг AGE-RAGE при осложнениях диабета ( $p = 8,23 \times 10^{-4}$ )

Тем не менее, одновременно можно было наблюдать общую стресс-индуцированную дисрегуляцию внутриклеточной сети актиновых филаментов, о чем говорит повышенная регуляция экспрессии белков SLIT и ROBO, а также ингибирование сигналинга Rho ГТФаз, которые, как известно, являются важнейшими регуляторами сборки актинового цитоскелета [23, 24]. Таким образом, на фоне действия ЭСД, по-видимому, происходят серьезные нарушения способности клеток к делению, миграции, эффективному везикулярному транспорту, взаимодействию с внеклеточным матриксом и формированию межклеточных контактов.

Наблюдаемая остановка клеточной пролиферации является следствием ингибирования множества сигнальных каскадов, регулирующих данный процесс. Среди них важнейший – каскад, опосредованный фосфатидилинозитол-3-киназой (PI3K) и протеинкиназой B (Akt) – PI3K/Akt. При этом ключевым нижележащим эффектором данного каскада в рассматриваемом случае, скорее всего, является гликогенсинтаза киназа 3 (GSK3), поскольку другой важный эффектор – mTORC1, остается парадоксальным образом активированным [25]. Снижение активности Akt стимулирует GSK3, которая, в свою очередь, фосфорилирует такие

белки как с-Myc, с-Jun, β-катенин, фактор, индуцируемый гипоксией (HIF)-1α, и многие другие, приводя к их инактивации [26].

Другим важным сигнальным путем, вовлеченным в процессы регенерации, пролиферации, а также выживаемости и дифференцировки клеток, дисрегуляция которого отмечается в проведенном эксперименте, является путь Hippo. У млекопитающих данный каскад представлен киназами Hippo (MST1/2, LATS1/2), кофакторами SAV1, MOB1A/B и коактиваторами транскрипции YAP/TAZ, при этом активация MST1/2 и LATS1/2 ингибирует активность YAP/TAZ, которые обеспечивают транскрипцию ключевых генов, участвующих в пролиферации [27]. При внимательном анализе списка генов, обогащающих соответствующую категорию KEGG, можно отметить, что снижена экспрессия как вышеперечисленных регуляторов киназ Hippo (*LIMD1*, *WWCI*, *DLG5*), так и *YAP/TAZ* (*ACTB*, *AJUBA*, *CDH1*), тем не менее, сниженная экспрессия мишени-эффекторов (*CCN2*, *CCND3*, *ID1*, *MYC*, *SERpine1*) все же свидетельствует о преобладающем снижении активности YAP/TAZ. Экспериментально доказано, что активность YAP/TAZ в клетках AT2 является необходимым условием для регенерации альвеолярного эпителия: выключение соответствующих генов сопровождалось патологическим ремоделированием альвеол, нарушением дифференцировки AT1 клеток, отложением коллагена, нейтрофильным воспалением и повышенной смертностью особей при повреждении легочной паренхимы блеомицином [28].

Дополнительно можно выделить еще один ключевой сигнальный механизм, ингибирующий пролиферацию, миграцию и адгезию эпителиальных клеток в проведенном эксперименте. Речь идет о нарушении активности рецепторных тирозинкиназ, многие из которых представляют собой рецепторы к различным факторам роста. В разрезе полученных данных, наиболее вероятным представляется подавление сигналинга двух рецепторов – к эпидермальному фактору роста (EGFR) и к инсулиноподобному фактору роста 1 (IGF1R). При этом на фоне действия ЭСД наблюдалось непосредственное снижение экспрессии соответствующих генов, а для EGFR, кроме того, снижалась экспрессия одного из лигандов – гепаринсвязывающего EGF-подобного фактора роста (*HBEGF*). Стимулирующий эффект EGF/EGFR сигналинга на пролиферацию AT2 клеток и регенерацию альвеол при остром повреждении хорошо известен. Помимо этого, EGFR также играет важную роль в развитии легких: нокаут соответствующего гена сопровождается снижением числа альвеол и их коллагеном за счет низкой продукции сурфактанта [29]. Все перечисленное применимо и к IGF1R. Данные рецепторы опосредуют важный сигнальный механизм, регулирующий пролиферацию и дифференцировку альвеолоцитов, в том числе в онтогенезе [30].

Необходимо отметить, что в целом данные о влия-

нии курения на пролиферацию альвеолоцитов, а также репаративные процессы в легких больных ХОБЛ выглядят крайне противоречиво. В то время как одни исследователи находят ингибирование пролиферации под действием сигаретного дыма [31], другие, напротив, фиксируют увеличение стволовых признаков AT2 клеток, в том числе, способности к пролиферации [32]. Способность альвеолярного эпителия больных ХОБЛ с эмфиземой формировать органоиды *in vitro* значительно снижена [3], тем не менее, в образцах легких, полученных от больных с эмфиземой, число пролиферирующих эпителиальных клеток выше по сравнению со здоровыми курильщиками и не курившими (хотя апоптоз также увеличен) [33].

Как уже говорилось, в проведенном эксперименте мы не отмечали активации апоптоза под действием ЭСД, напротив, данный процесс был, скорее, ингибирован за счет дисрегуляции сигнальных путей p53, фактора некроза опухоли (TNF) и FoxO. Сигналинг p53 служит важнейшим сигнальным механизмом, предотвращающим клеточное деление и индуцирующим апоптоз на фоне развития геномной нестабильности. Известно, что ингибирование p53 тормозит апоптоз в клетках альвеолярного эпителия. Несмотря на то, что эмфизема сочетается с повышенной экспрессией данного белка, p53, вероятно, все же играет протективную роль, поскольку нокаут гена *TP53* приводит к увеличению тяжести экспериментально-индуцированной эмфиземы [34]. FoxO являются семейством белков, которые вовлечены в регуляцию клеточного цикла, апоптоза и воспаления. Ингибирование активности FoxO3 тормозит апоптоз альвеолярного эпителия, однако, как и в случае с p53, нокаут FoxO3 вызывает развитие эмфиземы и воспаления у мышей, подвергнутых действию сигаретного дыма. Также установлено, что уровень экспрессии FoxO3 заметно снижен в легких курильщиков и больных ХОБЛ [35]. TNF также может индуцировать апоптоз, в том числе, в клетках альвеолярного эпителия [36], но одновременно является одним из ключевых медиаторов воспаления, активируя продукцию NF-кБ, IL-1, IL-6 и других цитокинов. В отличие от p53 и FoxO, сигналинг TNF играет патогенную роль в развитии эмфиземы легких, поскольку делеция генов рецепторов TNF предотвращает развитие заболевания. Тем не менее, остается до конца не ясным, опосредован патогенетический эффект TNF влиянием на воспалительную инфильтрацию или обусловлен, прежде всего, апоптозом [37, 38].

На основе сети белковых взаимодействий, построенной с помощью сервиса STRING, были выделены узловые гены, обладающие высокой степенью взаимосвязи с другими генами, и, вероятно, играющие ключевую роль в регуляции соответствующих биологических процессов. При исследовании взаимодействий белков, кодируемых апргулированными генами, мы исключили многочисленные гены рибосомальных субъединиц, формирующие доминирующий кластер, с

целью повышения информативности анализа. В результате, были выделены 20 ключевых генов, форми-

рующие три кластера (рис. 3).

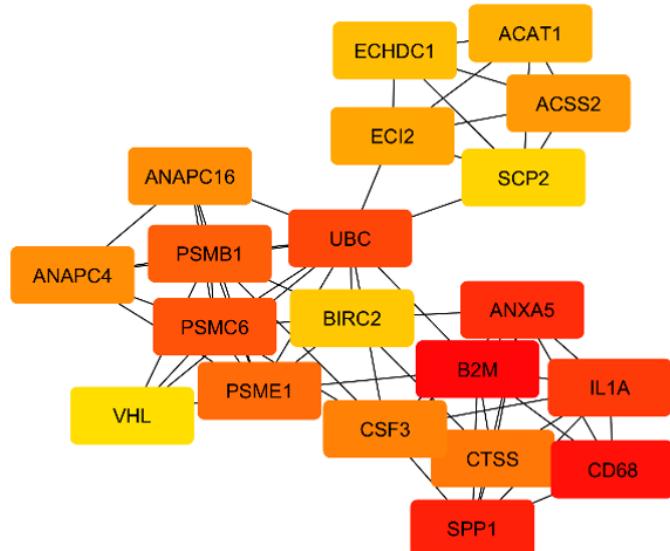


Рис. 3. Сеть взаимодействий между ключевыми апрегулированными генами.

Первый кластер включает гены, имеющие отношение к иммунному ответу. В данном ряду можно выделить гены, связанные с презентацией внутриклеточных антигенов (*B2M* (β2-микроглобулин) – компонент главного комплекса гистосовместимости класса I (MHC-I)), процессингом внеклеточных антигенов (*CTSS* (катепсин S) – лизосомальная протеаза, *CD68* (макрофагалин) – лизосомальный гликопротеин), активацией воспалительного ответа (*SPP1* (остеопонтин) – фактор хемотаксиса лейкоцитов, *CSF3* (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор) – стимулятор пролиферации и дифференцировки нейтрофилов, *IL1A* – провоспалительный цитокин). Кроме того, в данный кластер был включен ген аннексина A5 (*ANXA5*), роль которого в иммунологическом контексте может заключаться в связывании с фосфатидилсерином на плазматических мембранах апоптотических клеток, за счет чего тормозится их распознавание фагоцитами [39]. В свою очередь, известно, что нарушение фагоцитоза таких клеток (эффероцитоза) является фактором развития аутоиммунного ответа вследствие их возможного лизиса с выделением содергимого и дальнейшей презентацией собственных антигенов профессиональными антигенпрезентирующими клетками [40].

Второй кластер в основном содержит узловые гены, функция которых связана с убиквитин-протеасомной системой, играющей важную роль в деградации белков. Среди них, прежде всего, можно выделить полиубиквитин C (*UBC*) – белок, служащий источником мономерного убиквитина, который помечает другие белки для протеасомной деградации, а также компоненты протеасомы (*PSMB1*, *PSMC6*, *PSME1*) – белкового комплекса, расщепляющего убиквитинированные белки, а также осуществляющего протеолиз антигенов для презентации в составе MHC-

I. Функционально с данными процессами тесно связана работа комплекса стимуляции анафазы (*ANAPC4*, *ANAPC16*), катализирующего убиквитинирование белков, регулирующих клеточный цикл. При этом результатом повышенной активности данных генов может быть остановка цикла. Последние два гена второго кластера (*BIRC2*, *VHL*) также кодируют белки с убиквитин-лигазной активностью, при этом *BIRC2* является ингибитором апоптоза, подавляя каспазы-3, -7 и ассоциированный с апоптозом TNF-сигналинг, а основная роль *VHL* заключается в деградации факторов HIF-1α и -2α, что может нарушать адаптацию к гипоксии.

Наконец, третий кластер связан с липидным и энергетическим обменом: β-окислением жирных кислот (*ECI2* (еноил-КоА изомераза 2), *ECHDC1* (еноил-КоА гидратаза домен 1)), синтезом и переработкой ацетил-КоА (*ACAT1* (ацетил-КоА ацетилтрансфераза 1), *ACSS2* (ацетил-КоА синтетаза 2)), а также переносом липидов (*SCP2* (неспецифический белок-переносчик липидов)).

Узловые даунрегулированные гены были тесно сгруппированы и не формировали видимых кластеров (рис. 4). Наиболее высокий ранг, отражающий наибольшее число связей с другими генами, имели *MYC*, *IL6*, *JUN*, *FOS*, *ACTB* и *EGFR*. Тем не менее, согласно функциональной роли, для даунрегулированных узловых генов все же можно было выделить отдельные подгруппы. В первую подгруппу можно было отнести ключевые транскрипционные факторы, играющие важнейшую роль в росте, пролиферации и дифференцировке клеток – *MYC*, кодирующийprotoонкогенный белок с-Myc, *JUN* и *FOS*, кодирующие субъединицы фактора транскрипции AP-1 (activator protein-1), а также *EGR1*, кодирующий ранний фактор роста 1. Необходимо отметить, что с-Myc действительно может

служить защитным фактором в отношении развития эмфиземы, а его экспрессия снижена в моделях эмфиземы у мышей [41]. Аналогичные утверждения справедливы и для AP-1, в частности – его ключевого компонента c-Jun. Нокаут гена у мышей приводил к развитию прогрессирующей эмфиземы, а экспрессия белка была снижена у больных с тяжелой и крайне тяжелой ХОБЛ [42]. Вторая подгруппа была представлена коактиваторами транскрипции CREB-связывающим белком, кодируемым геном *CREBPP*, и его гомологом – белком p300 (ген *EP300*). Основная функция данных белков обусловлена гистон-ацетилтрансферазной активностью, приводящей к релаксации хроматина и облегчению транскрипции генов. Третья подгруппа содержала мембранные рецепторы из семейства рецепторных тирозинкиназ, кодируемые генами *EGFR* и *IGF1R*, а также рецептор Notch3, кодируемый соответствующим геном. Сигнaling, обусловленный активностью данных рецепторов, играет важную роль в пролиферации и дифференци-

ровке клеток. Четвертая подгруппа состояла из генов, вовлеченных в регуляцию цитоскелета (*ABL1* кодирует нерецепторную тирозинкиназу, активирующую Rho ГТФазы, управляющие полимеризацией и организацией актиновых филаментов, *ACTB* – ген  $\beta$ -актина), адгезии (*CDH1* – ген Е-кадгерина, основного белка адгезивных межклеточных контактов) и внеклеточного матрикса (матрицеллюлярные белки Сур61 (*CCN1*), *CTGF* (*CCN2*) и тромbosпондин-1 (*THBS1*), а также ингибитор активаторов плазминогена *PAI-1* (*SERPINE1*), тормозящий деградацию внеклеточного матрикса). В пятую подгруппу вошли гены, регулирующие клеточный цикл и апоптоз. *CDKN1A* кодирует белок p21, в норме тормозящий клеточный цикл на фоне стресса и повреждения ДНК, а *MCL1* – белок из семейства Bcl-2, тормозящий апоптоз. Наконец, в шестую подгруппу могут быть условно отнесены ген цитокина *IL6* и связанный с ним *SOCS3*, кодирующий белок-супрессор цитокинового сигналинга, ингибирующий киназы семейства JAK.

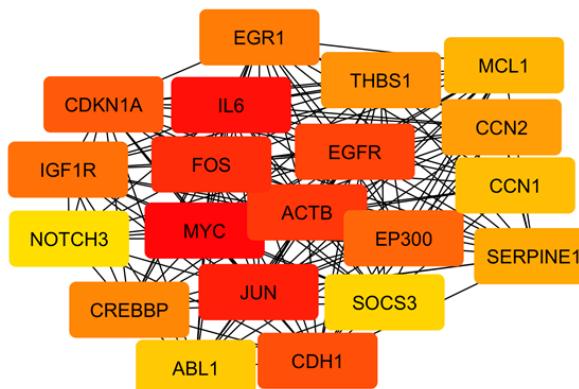


Рис. 4. Сеть взаимодействий между ключевыми даунрегулированными генами.

Исследование имеет ряд ограничений, которые следует учитывать при интерпретации полученных результатов. Во-первых, оно было выполнено на клеточной линии adenокарциномы легкого A549, которая, несмотря на частое использование в качестве суррогата AT2 клеток, имеет генетические и транскриптомные аномалии и не способна полноценно моделировать барьерную и секреторную функцию нормальных клеток альвеолярного эпителия. Кроме того, клетки A549 демонстрируют относительную устойчивость к апоптозу и могут иметь сниженную чувствительность к различным стрессовым факторам, включая ЭСД. Во-вторых, исследование не учитывает роль клеточного микроокружения, в том числе взаимодействия с клетками иммунной системы на фоне действия компонентов сигаретного дыма, что, в частности, может приводить к недооценке провоспалительных эффектов ЭСД. Третье ограничение было связано с тем, что количественная оценка мРНК не учитывает посттранскрипционные и посттрансляционные модификации, которые могут существенно влиять как на уровень, так и на активность белка. Таким образом, экспрессия бел-

ков может не соответствовать данным транскриптом-ного анализа, а их активность – определяться по-сттрансляционными механизмами, независимо от уровня экспрессии. При этом, несмотря на указанные ограничения, полученные результаты представляются достоверными и значимыми. По нашему мнению, в рамках проведенного исследования удалось воспроизвести ключевые особенности патогенеза ХОБЛ, наблю-даемые как у пациентов, так и в модельных условиях *in vivo*. Кроме того, предложенная патогенетическая схема отличается внутренней логичностью и согласу-ется с существующими представлениями о механизмах развития ХОБЛ.

## Заключение

Полученные результаты указывают на то, что под воздействием ЭСД и на фоне активации сигналинга mTORC1 в клетках развивается ЭПР-стресс, который приводит к общему ингибиоранию транскрипции и остановке клеточного цикла (прежде всего, за счет давления c-Myc и AP-1). Тем не менее, механизмы развития апоптоза, по-видимому, также угнетаются, в

результате чего клетка оказывается в состоянии метаболически активного стазиса. Продолжающаяся сборка дефектных белков активирует процессы их протеасомной деградации, в том числе, нацеленной на процесинг и дальнейшую презентацию в составе МНС-І для усиления иммунологического надзора над ситуацией. Все перечисленное сопровождается нарушением структурной организации клеток, в том числе, за счет разрушения актинового цитоскелета, ослабления межклеточных контактов и снижения продукции белков внеклеточного матрикса. Провоспалительный синглинг альвеолоцитов оказывается в целом подавлен, в том числе, снижается транскрипция *IL6*, что не позволяет говорить о формировании классического секреторного фенотипа, ассоциированного с клеточным старением. Несмотря на это, клетки продуцируют ряд медиаторов (*IL1A*, *SPP1*, *CSF3*), способных рекрутировать и активировать различные лейкоциты, прежде всего, нейтрофилы, моноциты и макрофаги.

Дальнейшие ключевые события, предположительно, будут обусловлены вовлечением клеток иммунной системы. Эффективность эффицинта будет снижаться ввиду прямого патогенного действия сигаретного дыма на макрофаги и блокирования распознавания апоптотических клеток аннексином А5. Нейтрофилы, привлеченные в легочную паренхиму, способны активироваться под действием сигаретного дыма с выбросом протеаз, цитокинов и активных форм кислорода, и этим способствовать разрушению эпителия с попаданием DAMP и поврежденных белков во внеклеточное пространство, что будет амплифицировать воспаление и запускать вторую волну иммунного ответа с презентацией собственных антигенов Т-клеткам. При этом важной особенностью взаимодействия цитотоксических Т-клеток с AT2 клетками может быть

их сниженная способность индуцировать апоптоз. Как уже говорилось, за счет апрегуляции *BIRC2* в эпителии снижается активность каспаз, а нарушение организации актиновой сети филаментов может затруднять эндоцитоз гранзимов и образование гигантосом. В результате, разрушение цитоплазматической мембраны перфорином, особенно при повторных атаках, будет скорее вызывать некротическую гибель клеток, защищая хроническое воспаление.

Дальнейшие исследования должны быть сосредоточены на верификации статуса mTORC1 сигналинга в альвеолярном и бронхиальном эпителии больных ХОБЛ, а также на поиске вышеперечисленных регуляторов, приводящих к его стимуляции под действием сигаретного дыма и пылевых частиц. Кроме того, интерес может представлять изучение патогенетических механизмов, связанных с антигенной презентацией собственных белков респираторным эпителием, а также моделирование взаимодействий эпителиальных клеток с антигенпрезентирующими и цитотоксическими Т-клетками *in vitro*.

#### 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-2025-0009)

#### 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-2025-0009)

## ЛИТЕРАТУРА

1. Wang Z., Lin J., Liang L., Huang F., Yao X., Peng K., Gao Y., Zheng J. Global, regional, and national burden of chronic obstructive pulmonary disease and its attributable risk factors from 1990 to 2021: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2021 // *Respir. Res.* 2025. Vol.26, Iss.1. Article number: 2. <https://doi.org/10.1186/s12931-024-03051-2>
2. Ruaro B., Salton F., Braga L., Wade B., Confalonieri P., Volpe M.C., Baratella E., Maiocchi S., Confalonieri M. The history and mystery of alveolar epithelial type II cells: focus on their physiologic and pathologic role in lung // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol.22, Iss.5. Article number: 2566. <https://doi.org/10.3390/ijms22052566>
3. Hu Y., Hu Q., Ansari M., Riemondy K., Pineda R., Sembrat J., Leme A.S., Ngo K., Morgenthaler O., Ha K., Gao B., Janssen W.J., Basil M.C., Kliment C.R., Morrisey E., Lehmann M., Evans C.M., Schiller H.B., Königshoff M. Airway-derived emphysema-specific alveolar type II cells exhibit impaired regenerative potential in COPD // *Eur. Respir. J.* 2024. Vol.64, Iss.6. Article number: 2302071. <https://doi.org/10.1183/13993003.02071-2023>
4. Yu H., Lin Y., Zhong Y., Guo X., Lin Y., Yang S., Liu J., Xie X., Sun Y., Wang D., Li B., Ran P., Dai J. Impaired AT2 to AT1 cell transition in PM2.5-induced mouse model of chronic obstructive pulmonary disease // *Respir. Res.* 2022. Vol.23, Iss.1. Article number: 70. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-01996-w>
5. Lee Y., Song J., Jeong Y., Choi E., Ahn C., Jang W. Meta-analysis of single-cell RNA-sequencing data for depicting the transcriptomic landscape of chronic obstructive pulmonary disease // *Comput. Biol. Med.* 2023. Vol.167. Article number: 107685. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2023.107685>
6. Lieber M., Smith B., Szakal A., Nelson-Rees W., Todaro G. A continuous tumor-cell line from a human lung carcinoma with properties of type II alveolar epithelial cells // *Int. J. Cancer.* 1976. Vol.17, Iss.1. P.62–70. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910170110>
7. Yanagihara T., Zhou Q., Tsubouchi K., Revill S., Ayoub A., Ghoflof M., Chong S.G., Dvorkin-Gheva A., Ask K.,

- Shi W., Kolb M.R. Intrinsic BMP inhibitor Gremlin regulates alveolar epithelial type II cell proliferation and differentiation // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2023. Vol.656. P.53–62. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.03.020>
8. Wickenden J.A., Clarke M.C., Rossi A.G., Rahman I., Faux S.P., Donaldson K., MacNee W. Cigarette smoke prevents apoptosis through inhibition of caspase activation and induces necrosis // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2003. Vol.29, Iss.5. P.562–570. <https://doi.org/10.1165/rccb.2002-0235OC>
9. Takahara T., Amemiya Y., Sugiyama R., Maki M., Shibata H. Amino acid-dependent control of mTORC1 signaling: a variety of regulatory modes // *J. Biomed. Sci.* 2020. Vol.27, Iss.1. Article number: 87. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00679-2>
10. Mitani A., Ito K., Vuppusetty C., Barnes P.J., Mercado N. Restoration of corticosteroid sensitivity in chronic obstructive pulmonary disease by inhibition of mammalian target of rapamycin // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016. Vol.193, Iss.2. P.143–153. <https://doi.org/10.1164/rccm.201503-0593OC>
11. Carroll B., Nelson G., Rabanal-Ruiz Y., Kucheryavenko O., Dunhill-Turner N.A., Chesterman C.C., Zahari Q., Zhang T., Conduit S.E., Mitchell C.A., Maddocks O.D.K., Lovat P., von Zglinicki T., Korolchuk V.I. Persistent mTORC1 signaling in cell senescence results from defects in amino acid and growth factor sensing // *J. Cell Biol.* 2017. Vol.216, Iss.7. P.1949–1957. <https://doi.org/10.1083/jcb.201610113>
12. Wang A., Li Z., Sun Z., Liu Y., Zhang D., Ma X. Potential mechanisms between HF and COPD: new insights from bioinformatics // *Curr. Probl. Cardiol.* 2023. Vol.48, Iss.3. Article number: 101539. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2022.101539>
13. Jun I., Choi Y.J., Kim B.R., Lee H.K., Seo K.Y., Kim T.I. Activation of the mTOR pathway enhances PPAR $\gamma$ /SREBP-mediated lipid synthesis in human meibomian gland epithelial cells // *Sci. Rep.* 2024. Vol.14, Iss.1. Article number: 28118. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-73969-6>
14. Matsushita M., Futawaka K., Hayashi M., Murakami K., Mitsutani M., Hatai M., Watamoto Y., Yoshikawa N., Nakamura K., Tagami T., Moriyama K. Cigarette smoke extract modulates functions of peroxisome proliferator-activated receptors // *Biol. Pharm. Bull.* 2019. Vol.42, Iss.10. P.1628–1636. <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00991>
15. Bougarne N., Weyers B., Desmet S.J., Deckers J., Ray D.W., Staels B., De Bosscher K. Molecular actions of PPAR $\alpha$  in lipid metabolism and inflammation // *Endocr. Rev.* 2018. Vol.39, Iss.5. P.760–802. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00064>
16. Сугайло И.Ю., Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Котова О.О., Конев А.В., Шелудько Е.Г. Уровень аденоzinтрифосфата и капсаицин-индуцированные изменения мембранныго потенциала митохондрий в мононуклеарах больных хронической обструктивной болезнью легких // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2025. Вып.96. Р.33–44. <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2025-96-33-44>
17. Yeap J.W., Ali I.A.H., Ibrahim B., Tan M.L. Chronic obstructive pulmonary disease and emerging ER stress-related therapeutic targets // *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2023. Vol.81. Article number: 102218. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2023.102218>
18. Campellone K.G., Lebek N.M., King V.L. Branching out in different directions: emerging cellular functions for the Arp2/3 complex and WASP-family actin nucleation factors // *Eur. J. Cell Biol.* 2023. Vol.102, Iss.2. Article number: 151301. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2023.151301>
19. Malinova D., Fritzsche M., Nowosad C.R., Armer H., Munro P.M., Blundell M.P., Charras G., Tolar P., Bouma G., Thrasher A.J. WASp-dependent actin cytoskeleton stability at the dendritic cell immunological synapse is required for extensive, functional T cell contacts // *J. Leukoc. Biol.* 2016. Vol.99, Iss.5. P.699–710. <https://doi.org/10.1189/jlb.2A0215-050RR>
20. Manoury B., Maisonneuve L., Podsypanina K. The role of endoplasmic reticulum stress in the MHC class I antigen presentation pathway of dendritic cells // *Mol. Immunol.* 2022. Vol.144. P.44–48. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2022.02.007>
21. Granados D.P., Tanguay P.L., Hardy M.P., Caron E., de Verteuil D., Meloche S., Perreault C. ER stress affects processing of MHC class I-associated peptides // *BMC Immunol.* 2009. Vol.10. Article number: 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-10-10>
22. Williams M., Todd I., Fairclough L.C. The role of CD8+ T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review // *Inflamm. Res.* 2021. Vol.70, Iss.1. P.11–18. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01408-z>
23. Tong M., Jun T., Nie Y., Hao J., Fan D. The role of the Slit/Robo signaling pathway // *J. Cancer.* 2019. Vol.10, Iss.12. P.2694–2705. <https://doi.org/10.7150/jca.31877>
24. Chi X., Wang S., Huang Y., Stammes M., Chen J.L. Roles of rho GTPases in intracellular transport and cellular transformation // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol.14, Iss.4. P.7089–7108. <https://doi.org/10.3390/ijms14047089>
25. Hoxhaj G., Manning B.D. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism // *Nat. Rev. Cancer.* 2020. Vol.20, Iss.2. P.74–88. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0216-7>
26. Sutherland C. What are the bona fide GSK3 substrates? // *Int. J. Alzheimers Dis.* 2011. Vol.2011. Article number: 505607. <https://doi.org/10.4061/2011/505607>

27. Moya I.M., Halder G. Hippo-YAP/TAZ signalling in organ regeneration and regenerative medicine // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019. Vol.20, Iss.4. P.211–226. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0086-y>
28. DiGiovanni G.T., Han W., Sherrill T.P., Taylor C.J., Nichols D.S., Geis N.M., Singha U.K., Calvi C.L., McCall A.S., Dixon M.M., Liu Y., Jang J.H., Gutor S.S., Polosukhin V.V., Blackwell T.S., Kropski J.A., Gokey J.J. Epithelial Yap/Taz are required for functional alveolar regeneration following acute lung injury // *JCI Insight*. 2023. Vol.8, Iss.19. Article number: e173374. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.173374>
29. Finigan J.H., Downey G.P., Kern J.A. Human epidermal growth factor receptor signaling in acute lung injury // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2012. Vol.47, Iss.4. P.395–404. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0100TR>
30. Sun Z., Shushanov S., LeRoith D., Wood T.L. Decreased IGF type 1 receptor signaling in mammary epithelium during pregnancy leads to reduced proliferation, alveolar differentiation, and expression of insulin receptor substrate (IRS)-1 and IRS-2 // *Endocrinology*. 2011. Vol.152, Iss.8. P.3233–3245. <https://doi.org/10.1210/en.2010-1296>
31. Jiao Z., Ao Q., Ge X., Xiong M. Cigarette smoke extract inhibits the proliferation of alveolar epithelial cells and augments the expression of P21WAF1 // *J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* 2008. Vol.28, Iss.1. P.6–10. <https://doi.org/10.1007/s11596-008-0102-0>
32. Tsutsumi A., Ozaki M., Chubachi S., Irie H., Sato M., Kameyama N., Sasaki M., Ishii M., Hegab A.E., Betsuyaku T., Fukunaga K. Exposure to cigarette smoke enhances the stemness of alveolar type 2 cells // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2020. Vol.63, Iss.3. P.293–305. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2019-0188OC>
33. Yokohori N., Aoshiba K., Nagai A., Respiratory Failure Research Group in Japan. Increased levels of cell death and proliferation in alveolar wall cells in patients with pulmonary emphysema // *Chest*. 2004. Vol.125, Iss.2. P.626–632. <https://doi.org/10.1378/chest.125.2.626>
34. Uddin M.A., Barabutis N. P53 in the impaired lungs // *DNA Repair (Amst)*. 2020. Vol.95. Article number: 102952. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2020.102952>
35. Hwang J.W., Rajendrasozhan S., Yao H., Chung S., Sundar I.K., Huyck H.L., Pryhuber G.S., Kinnula V.L., Rahman I. FOXO3 deficiency leads to increased susceptibility to cigarette smoke-induced inflammation, airspace enlargement, and chronic obstructive pulmonary disease // *J. Immunol.* 2011. Vol.187, Iss.2. P.987–998. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001861>
36. Meng C., Wang S., Wang X., Lv J., Zeng W., Chang R., Li Q., Wang X. Amphiregulin inhibits TNF- $\alpha$ -induced alveolar epithelial cell death through EGFR signaling pathway // *Biomed. Pharmacother.* 2020. Vol.125. Article number: 109995. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109995>
37. Churg A., Wang R.D., Tai H., Wang X., Xie C., Wright J.L. Tumor necrosis factor-alpha drives 70% of cigarette smoke-induced emphysema in the mouse // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004. Vol.170, Iss.5. P.492–498. <https://doi.org/10.1164/rccm.200404-511OC>
38. Fujita M., Ouchi H., Ikegami S., Harada E., Matsumoto T., Uchino J., Nakanishi Y., Watanabe K. Critical role of tumor necrosis factor receptor 1 in the pathogenesis of pulmonary emphysema in mice // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016. Vol.11. P.1705–1712. <https://doi.org/10.2147/COPD.S108919>
39. Kang T.H., Park J.H., Yang A., Park H.J., Lee S.E., Kim Y.S., Jang G.Y., Farmer E., Lam B., Park Y.M., Hung C.F. Annexin A5 as an immune checkpoint inhibitor and tumor-homing molecule for cancer treatment // *Nat. Commun.* 2020. Vol.11, Iss.1. Article number: 1137. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14821-z>
40. Kawano M., Nagata S. Efferocytosis and autoimmune disease // *Int. Immunol.* 2018. Vol.30, Iss.12. P.551–558. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxy055>
41. Xie B., Chen Q., Dai Z., Jiang C., Chen X. Progesterone (P4) ameliorates cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease (COPD) // *Mol. Med.* 2024. Vol.30, Iss.1. Article number: 123. <https://doi.org/10.1186/s10020-024-00883-y>
42. Reddy N.M., Vegiraju S., Irving A., Paun B.C., Luzina I.G., Atamas S.P., Biswal S., Ana N.A., Mitzner W., Reddy S.P. Targeted deletion of Jun/AP-1 in alveolar epithelial cells causes progressive emphysema and worsens cigarette smoke-induced lung inflammation // *Am. J. Pathol.* 2012. Vol.180, Iss.2. P.562–574. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.10.029>

## REFERENCES

1. Wang Z., Lin J., Liang L., Huang F., Yao X., Peng K., Gao Y., Zheng J. Global, regional, and national burden of chronic obstructive pulmonary disease and its attributable risk factors from 1990 to 2021: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *Respir. Res.* 2025; 26(1):2. <https://doi.org/10.1186/s12931-024-03051-2>
2. Ruaro B., Salton F., Braga L., Wade B., Confalonieri P., Volpe M.C., Baratella E., Maiocchi S., Confalonieri M. The history and mystery of alveolar epithelial type II cells: focus on their physiologic and pathologic role in lung. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(5):2566. <https://doi.org/10.3390/ijms22052566>
3. Hu Y., Hu Q., Ansari M., Riemondy K., Pineda R., Sembrat J., Leme A.S., Ngo K., Morgenthaler O., Ha K., Gao B., Janssen W.J., Basil M.C., Kliment C.R., Morrisey E., Lehmann M., Evans C.M., Schiller H.B., Königshoff M. Airway-derived emphysema-specific alveolar type II cells exhibit impaired regenerative potential in COPD. *Eur. Respir. J.*

2024; 64(6):2302071. <https://doi.org/10.1183/13993003.02071-2023>

4. Yu H., Lin Y., Zhong Y., Guo X., Lin Y., Yang S., Liu J., Xie X., Sun Y., Wang D., Li B., Ran P., Dai J. Impaired AT2 to AT1 cell transition in PM2.5-induced mouse model of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Res.* 2022; 23(1):70. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-01996-w>

5. Lee Y., Song J., Jeong Y., Choi E., Ahn C., Jang W. Meta-analysis of single-cell RNA-sequencing data for depicting the transcriptomic landscape of chronic obstructive pulmonary disease. *Comput. Biol. Med.* 2023; 167:107685. <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2023.107685>

6. Lieber M., Smith B., Szakal A., Nelson-Rees W., Todaro G. A continuous tumor-cell line from a human lung carcinoma with properties of type II alveolar epithelial cells. *Int. J. Cancer* 1976; 17(1):62–70. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910170110>

7. Yanagihara T., Zhou Q., Tsubouchi K., Revill S., Ayoub A., Ghilof M., Chong S.G., Dvorkin-Gheva A., Ask K., Shi W., Kolb M.R. Intrinsic BMP inhibitor Gremlin regulates alveolar epithelial type II cell proliferation and differentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2023; 656:53–62. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.03.020>

8. Wickenden J.A., Clarke M.C., Rossi A.G., Rahman I., Faux S.P., Donaldson K., MacNee W. Cigarette smoke prevents apoptosis through inhibition of caspase activation and induces necrosis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2003; 29(5):562–570. <https://doi.org/10.1165/rccb.2002-0235OC>

9. Takahara T., Amemiya Y., Sugiyama R., Maki M., Shibata H. Amino acid-dependent control of mTORC1 signaling: a variety of regulatory modes. *J. Biomed. Sci.* 2020; 27(1):87. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00679-2>

10. Mitani A., Ito K., Vuppusetty C., Barnes P.J., Mercado N. Restoration of corticosteroid sensitivity in chronic obstructive pulmonary disease by inhibition of mammalian target of rapamycin. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2016; 193(2):143–153. <https://doi.org/10.1164/rccm.201503-0593OC>

11. Carroll B., Nelson G., Rabanal-Ruiz Y., Kucheryavenko O., Dunhill-Turner N.A., Chesterman C.C., Zahari Q., Zhang T., Conduit S.E., Mitchell C.A., Maddocks O.D.K., Lovat P., von Zglinicki T., Korolchuk V.I. Persistent mTORC1 signaling in cell senescence results from defects in amino acid and growth factor sensing. *J. Cell Biol.* 2017; 216(7):1949–1957. <https://doi.org/10.1083/jcb.201610113>

12. Wang A., Li Z., Sun Z., Liu Y., Zhang D., Ma X. Potential mechanisms between HF and COPD: new insights from bioinformatics. *Curr. Probl. Cardiol.* 2023; 48(3):101539. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2022.101539>

13. Jun I., Choi Y.J., Kim B.R., Lee H.K., Seo K.Y., Kim T.I. Activation of the mTOR pathway enhances PPAR $\gamma$ /SREBP-mediated lipid synthesis in human meibomian gland epithelial cells. *Sci. Rep.* 2024; 14(1):28118. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-73969-6>

14. Matsushita M., Futawaka K., Hayashi M., Murakami K., Mitsutani M., Hatai M., Watamoto Y., Yoshikawa N., Nakamura K., Tagami T., Moriyama K. Cigarette smoke extract modulates functions of peroxisome proliferator-activated receptors. *Biol. Pharm. Bull.* 2019; 42(10):1628–1636. <https://doi.org/10.1248/bpb.b18-00991>

15. Bougarne N., Weyers B., Desmet S.J., Deckers J., Ray D.W., Staels B., De Bosscher K. Molecular actions of PPAR $\alpha$  in lipid metabolism and inflammation. *Endocr. Rev.* 2018; 39(5):760–802. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00064>

16. Sugaylo I.Yu., Naumov D.E., Gassan D.A., Kotova O.O., Konev A.V., Sheludko E.G. [Adenosine triphosphate level and capsaicin-induced changes in mitochondrial membrane potential in mononuclear cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease]. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration* 2025; 96:33–44 (in Russian). <https://doi.org/10.36604/1998-5029-2025-96-33-44>

17. Yeap J.W., Ali I.A.H., Ibrahim B., Tan M.L. Chronic obstructive pulmonary disease and emerging ER stress-related therapeutic targets. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2023; 81:102218. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2023.102218>

18. Campellone K.G., Lebek N.M., King V.L. Branching out in different directions: Emerging cellular functions for the Arp2/3 complex and WASP-family actin nucleation factors. *Eur. J. Cell Biol.* 2023; 102(2):151301. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2023.151301>

19. Malinova D., Fritzsche M., Nowosad C.R., Armer H., Munro P.M., Blundell M.P., Charras G., Tolar P., Bouma G., Thrasher A.J. WASp-dependent actin cytoskeleton stability at the dendritic cell immunological synapse is required for extensive, functional T cell contacts. *J. Leukoc. Biol.* 2016; 99(5):699–710. <https://doi.org/10.1189/jlb.2A0215-050RR>

20. Manoury B., Maisonneuve L., Podsypanina K. The role of endoplasmic reticulum stress in the MHC class I antigen presentation pathway of dendritic cells. *Mol. Immunol.* 2022; 144:44–48. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2022.02.007>

21. Granados D.P., Tanguay P.L., Hardy M.P., Caron E., de Verteuil D., Meloche S., Perreault C. ER stress affects processing of MHC class I-associated peptides. *BMC Immunol.* 2009; 10:10. <https://doi.org/10.1186/1471-2172-10-10>

22. Williams M., Todd I., Fairclough L.C. The role of CD8+T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *Inflamm. Res.* 2021; 70(1):11–18. <https://doi.org/10.1007/s0011-020-01408-z>

23. Tong M., Jun T., Nie Y., Hao J., Fan D. The Role of the Slit/Robo Signaling Pathway. *J. Cancer* 2019; 10(12):2694–2705. <https://doi.org/10.7150/jca.31877>

24. Chi X., Wang S., Huang Y., Stammes M., Chen J.L. Roles of rho GTPases in intracellular transport and cellular transformation. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14(4):7089–7108. <https://doi.org/10.3390/ijms14047089>

25. Hoxhaj G., Manning B.D. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism. *Nat. Rev. Cancer* 2020; 20(2):74–88. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0216-7>
26. Sutherland C. What are the bona fide GSK3 substrates? *Int. J. Alzheimers Dis.* 2011; 2011:505607. <https://doi.org/10.4061/2011/505607>
27. Moya I.M., Halder G. Hippo-YAP/TAZ signalling in organ regeneration and regenerative medicine. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019; 20(4):211–226. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0086-y>
28. DiGiovanni G.T., Han W., Sherrill T.P., Taylor C.J., Nichols D.S., Geis N.M., Singha U.K., Calvi C.L., McCall A.S., Dixon M.M., Liu Y., Jang J.H., Guttor S.S., Polosukhin V.V., Blackwell T.S., Kropski J.A., Gokey J.J. Epithelial Yap/Taz are required for functional alveolar regeneration following acute lung injury. *JCI Insight* 2023; 8(19):e173374. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.173374>
29. Finigan J.H., Downey G.P., Kern J.A. Human epidermal growth factor receptor signaling in acute lung injury. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2012; 47(4):395–404. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2012-0100TR>
30. Sun Z., Shushanov S., LeRoith D., Wood T.L. Decreased IGF type 1 receptor signaling in mammary epithelium during pregnancy leads to reduced proliferation, alveolar differentiation, and expression of insulin receptor substrate (IRS)-1 and IRS-2. *Endocrinology* 2011; 152(8):3233–3245. <https://doi.org/10.1210/en.2010-1296>
31. Jiao Z., Ao Q., Ge X., Xiong M. Cigarette smoke extract inhibits the proliferation of alveolar epithelial cells and augments the expression of P21WAF1. *J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* 2008; 28(1):6–10. <https://doi.org/10.1007/s11596-008-0102-0>
32. Tsutsumi A., Ozaki M., Chubachi S., Irie H., Sato M., Kameyama N., Sasaki M., Ishii M., Hegab A.E., Betsuyaku T., Fukunaga K. Exposure to cigarette smoke enhances the stemness of alveolar type 2 cells. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2020; 63(3):293–305. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2019-0188OC>
33. Yokohori N., Aoshiba K., Nagai A.; Respiratory Failure Research Group in Japan. Increased levels of cell death and proliferation in alveolar wall cells in patients with pulmonary emphysema. *Chest* 2004; 125(2):626–632. <https://doi.org/10.1378/chest.125.2.626>
34. Uddin M.A., Barabutis N. P53 in the impaired lungs. *DNA Repair (Amst.)* 2020; 95:102952. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2020.102952>
35. Hwang J.W., Rajendrasozhan S., Yao H., Chung S., Sundar I.K., Huyck H.L., Pryhuber G.S., Kinnula V.L., Rahman I. FOXO3 deficiency leads to increased susceptibility to cigarette smoke-induced inflammation, airspace enlargement, and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Immunol.* 2011; 187(2):987–998. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001861>
36. Meng C., Wang S., Wang X., Lv J., Zeng W., Chang R., Li Q., Wang X. Amphiregulin inhibits TNF- $\alpha$ -induced alveolar epithelial cell death through EGFR signaling pathway. *Biomed. Pharmacother.* 2020; 125:109995. <https://doi.org/10.1016/j.bioph.2020.109995>
37. Churg A., Wang R.D., Tai H., Wang X., Xie C., Wright J.L. Tumor necrosis factor-alpha drives 70% of cigarette smoke-induced emphysema in the mouse. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; 170(5):492–498. <https://doi.org/10.1164/rccm.200404-511OC>
38. Fujita M., Ouchi H., Ikegami S., Harada E., Matsumoto T., Uchino J., Nakanishi Y., Watanabe K. Critical role of tumor necrosis factor receptor 1 in the pathogenesis of pulmonary emphysema in mice. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016; 11:1705–1712. <https://doi.org/10.2147/COPD.S108919>
39. Kang T.H., Park J.H., Yang A., Park H.J., Lee S.E., Kim Y.S., Jang G.Y., Farmer E., Lam B., Park Y.M., Hung C.F. Annexin A5 as an immune checkpoint inhibitor and tumor-homing molecule for cancer treatment. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):1137. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14821-z>
40. Kawano M., Nagata S. Efferocytosis and autoimmune disease. *Int. Immunol.* 2018; 30(12):551–558. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxy055>
41. Xie B., Chen Q., Dai Z., Jiang C., Chen X. Progesterone (P4) ameliorates cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Mol. Med.* 2024; 30(1):123. <https://doi.org/10.1186/s10020-024-00883-y>
42. Reddy N.M., Vegiraju S., Irving A., Paun B.C., Luzina I.G., Atamas S.P., Biswal S., Ana N.A., Mitzner W., Reddy S.P. Targeted deletion of Jun/AP-1 in alveolar epithelial cells causes progressive emphysema and worsens cigarette smoke-induced lung inflammation. *Am. J. Pathol.* 2012; 180(2):562–574. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.10.029>

Информация об авторах:

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

Author information:

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

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

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

Поступила 23.07.2025  
Принята к печати 27.08.2025

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

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

Received July 23, 2025  
Accepted August 27, 2025