

УДК 616.248-001.19:612.225:611.018.53:576.385:577.122

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-60-68>

Интерлейкин-4 и интерферон-гамма в ремоделировании бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей

Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Гассан Д.А., Наумов Д.Е., Перельман Ю.М.

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД)

Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

Интерлейкин-4 (IL-4) и интерферон-гамма (IFN γ) – одни из основных участников поляризации иммунного ответа по Th1 или Th2 типу при бронхиальной астме (БА). Неизвестна их роль в ремоделировании бронхов у больных БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (ХГДП).

Цель. Изучение путей участия IL-4 и IFN γ в дезорганизации бронхиального эпителия и регуляции ремоделирования дыхательных путей при БА с ХГДП.

Материалы и методы. Обследованы 47 пациентов с легкой персистирующей БА. Проводился сбор индуцированной мокроты, забор крови для биохимических исследований, выполнялись спирометрия и бронхопровокационная проба изокапнической гипервентиляции холодным (-20°C) воздухом (ИГХВ). В мокроте исследовали клеточный состав (в %), в периферической крови – цитокиновый профиль (IL-4, IFN γ , в пг/мл).

Результаты. Пациенты разделены на группы с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (1-я группа, 17 человек) и с отсутствием холодовой бронхоконстрикции (2-я группа, 30 человек). Объем форсированного выдоха за 1 с (ОФВ $_1$) и средняя объемная скорость выдоха (СОС $_{25-75}$) на уровне 25–75% жизненной емкости легких (ЖЕЛ) в 1-й группе были ниже по сравнению со 2-й группой: 84,0 [83,0;93,0] и 99,0 [85,0;105,0]% ($p = 0,012$); 55,0 [51,0;67,0] и 76,0 [59,0;88,0]% ($p = 0,021$) соответственно. Содержание в крови IL-4 и IFN γ в 1-й группе составляло 11,48 [10,82;22,48] и 26,98 [17,24;73,5] пг/мл, во 2-й группе 1,88 [0,66;5,96] ($p = 0,003$) и 7,24 [1,5;26,98] пг/мл ($p = 0,047$) соответственно. В 1-й группе найдена связь между содержанием в крови IL-4 и IFN γ ($R_s = 0,65$; $p = 0,016$), между ОФВ $_1$ и количеством эпителиоцитов в мокроте ($R_s = -0,74$; $p = 0,0003$), а также между IL-4 и реакцией дыхательных путей ($\Delta\text{ОФВ}_1/\text{ЖЕЛ}$) в ответ на пробу ИГХВ ($R_s = -0,70$; $p = 0,007$).

Заключение. Эскалация провоспалительной и прооксидантной функции IFN γ свидетельствует о смещении баланса активации Th2 иммунного ответа, регулируемого сигналами IL-4, в сторону Th1 иммунного ответа, стимулирующего ремоделирование бронхов у больных БА с ХГДП.

Ключевые слова: бронхиальная астма, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, IL-4, IFN γ , бронхиальный эпителий, ремоделирование дыхательных путей

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике ДНЦ ФПД (протокол № 148 от 24.05.2023).

Для цитирования: Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Гассан Д.А., Наумов Д.Е., Перельман Ю.М. Интерлейкин-4 и интерферон-гамма в ремоделировании бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2025;24(1):60–68. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-60-68>.

Interleukin-4 and interferon gamma in bronchial remodeling in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Gassan D.A., Naumov D.E., Perelman J.M.

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

ABSTRACT

Interleukin-4 (IL-4) and interferon gamma (IFN γ) are key participants in the polarization of the immune response toward Th1 or Th2 types in bronchial asthma. However, their role in bronchial remodeling in patients with asthma and cold airway hyperresponsiveness (CAHR) remains unclear.

Aim. To study the involvement of IL-4 and IFN γ in the disorganization of bronchial epithelium and the regulation of airway remodeling in asthma with CAHR.

Materials and methods. A total of 47 patients with mild persistent asthma were examined. Induced sputum collection, blood sampling for biochemical studies, spirometry, and the isocapnic hyperventilation test with cold (-20 °C) air (IHCA) were performed. The sputum was analyzed for cellular composition (in %), and the cytokine profile (IL-4 and IFN γ in pg / ml) was evaluated in peripheral blood.

Results. The patients were divided into groups with CAHR (group 1, 17 patients) and without cold-induced bronchoconstriction (group 2, 30 patients). Forced expiratory volume in 1 sec. (FEV $_1$) and maximal mid-expiratory flow (MMEF) in group 1 were lower compared to group 2: 84.0[83.0; 93.0]% and 99.0 [85.0; 105.0]% ($p = 0.012$); 55.0[51.0;67.0]% and 76.0[59.0;88.0]% ($p = 0.021$), respectively. The blood content of IL-4 and IFN γ in group 1 was 11.48[10.82;22.48] pg / ml and 26.98[17.24; 73.5] pg / ml, while in group 2, it was 1.88 [0.66; 5.96] ($p = 0.003$) and 7.24[1.5; 26.98] pg / ml ($p = 0.047$), respectively. In group 1, an association was found between blood IL-4 and IFN γ levels ($R_s = 0.65$; $p = 0.016$), between FEV $_1$ and the number of epithelial cells in sputum ($R_s = -0.74$; $p = 0.0003$), and between IL-4 and airway response (Δ FEV $_1$ /Vital Capacity) after the IHCA ($R_s = -0.70$; $p = 0.007$).

Conclusion. The escalation of the proinflammatory and pro-oxidant function of IFN γ indicates a shift from Th2 immune response activation, regulated by IL-4, toward a Th1 response, which stimulates bronchial remodeling in patients with asthma and CAHR.

Keywords: bronchial asthma, cold airway hyperresponsiveness, IL-4, IFN γ , bronchial epithelium, airway remodeling

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Bioethics Committee at the Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration (Protocol No. 148 of 24.05.2023).

For citation: Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Gassan D.A., Naumov D.E., Perelman J.M. Interleukin-4 and interferon-gamma in bronchial remodeling in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2025;24(1):60–68. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2025-1-60-68>.

ВВЕДЕНИЕ

Ремоделирование дыхательных путей у больных бронхиальной астмой (БА) представляет собой изменение структурно-функциональной организации паренхиматозных и стромальных элементов бронхов, факторами индукции которого выступают повреждение и нарушение восстановления эпителиального барьера. Под влиянием разнообразных

триггеров – аллергенов, вирусов, аларминов, низкой температуры – в деструктурированном эпителии иницируются сигнальные пути воспаления с вовлечением иммунокомпетентных клеток, активируются эпителиально-мезенхимальные единицы бронхов, секретируются провоспалительные цитокины, что приводит к персистенции хронического воспаления, развитию гиперреактивности и обструкции дыхательных путей [1–4].

Источником медиаторов воспаления в бронхах астматиков являются гранулоциты, лимфоциты, макрофаги, тучные и интерстициальные клетки, гладкие миоциты, однако первоначальным продуцентом цитокинов и факторов роста становятся клетки поврежденной паренхимы. Активированный эпителий генерирует алармины TSLP, интерлейкин (IL) 25 и IL-33, стимулирующие поляризацию наивных Т-хелперов в Th2, экспрессию IL-4, IL-5, IL-13 и эозинофильное воспаление; IL-5 и GM-CSF, регулирующие совместно с эотаксинами, CCL5/RANTES и MCP продукцию, созревание, привлечение и активацию эозинофилов; IL-9 и IL-13, индуцирующие метаплазию цилиарных эпителиоцитов в секреторные мукоциты; CCL17/TARC и CXCL8/IL-8, рекрутирующие, соответственно, Th17 и нейтрофилы; провоспалительные цитокины и хемокины IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12, IL-18, IL-36, фактор некроза опухоли α (TNF α), CXCL5, CCL20, CCL22, CCL5/RANTES, CXCL10, интерфероны I (IFN α/β), III (IFN λ 1, 2 и 3) типов, а также IFN γ [1, 3, 5, 6].

Экспрессия CXCL2, CXCL8, IL-12, CCL20, IFN γ , IL-6, IL-18, IL-36, TNF α ассоциируется с активацией эпителия вирусами и другими инфекционными агентами, что приводит к мобилизации нейтрофилов, нейтрофильно-макрофагальной инфильтрации бронхов и реакции нейтрофильного пула на сигналы IL-12 и IFN γ в виде высвобождения провоспалительных цитокинов [6]. Такой Th1 вариант иммунного ответа характерен для холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП), сопряженной со смешанным паттерном бронхиального воспаления, деструкцией и цитолизом нейтрофилов, сопровождающейся эскалацией синтеза провоспалительных цитокинов и структурных признаков эпителиальной дисфункции [7]. Клинически это проявляется неконтролируемым течением БА с нарастанием симптомов в холодный период времени, потребностью увеличения доз получаемого препарата и (или) включения в терапию системных глюкокортикостероидов [7].

В силу того, что центральным цитокином, отвечающим за дифференцировку, рост, эффекторные функции Th1-клеток и поляризующим иммунный ответ по типу Th1, является IFN γ [8–10], а к числу главных активаторов иммунного ответа Th2 и аллергического воспаления бронхов относится IL-4 [5, 11], было запланировано исследование, цель которого заключалась в изучении путей участия IL-4 и IFN γ в дезорганизации бронхиального эпителия и регуляции ремоделирования дыхательных путей у больных БА с ХГДП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 47 пациентов, обратившихся за амбулаторно-поликлинической помощью в клинику Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД) с диагнозом легкой персистирующей БА [12], ранее не получавших ингаляционную терапию глюкокортикостероидами на регулярной основе.

Настоящее клиническое исследование проводилось с разрешения локального комитета по биоэтической этике ДНЦ ФПД (протокол № 148 от 24.05.2023). Все пациенты знакомы с протоколом клинического исследования, им разъяснялась процедура проведения функционального тестирования, после чего, совместно с исследователем, они подписывали добровольное информированное согласие.

Дизайном исследования предусматривался период для определения клинического состояния пациента, тяжести БА и визит для сбора индуцированной мокроты (1-й день), забора крови для биохимических исследований, проведения бронхопровокационной пробы изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (2-й день), после чего проводилось распределение в группы по признаку наличия или отсутствия ХГДП (1-я и 2-я группы соответственно).

Критериями включения больного в исследование служили: объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) более 75% должной величины по данным спирометрии; отсутствие в анамнезе аллергической реакции на холод, документально подтвержденной аллергологом (метод Дугласа).

Не включались в исследование лица с нарушением вентиляционной функции легких по обструктивному типу (ОФВ₁ ниже 75% должной величины) с сопутствующими заболеваниями органов дыхания (острые бактериальные или вирусные инфекции на момент тестирования, хроническая обструктивная болезнь легких и др.), с клинически значимой коморбидностью со стороны других органов и систем, беременные, а также принимавшие лекарственные препараты, которые могли повлиять на дальнейшую интерпретацию результатов.

Инструментальное тестирование выполнялось квалифицированным медицинским персоналом в условиях лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы ДНЦ ФПД.

Сбор индуцированной мокроты осуществляли по стандартной методике под контролем ОФВ₁, оцениваемого по результатам спирограммы в начале сбора и после каждой ингаляции 3, 4 и 5%-го раствора хлорида натрия (NaCl). Перед каждой процедурой забора мокроты пациент ополаскивал рот дистилли-

рованной водой. Изучение образцов мокроты проводили не позднее 2 ч после получения. Мазки мокроты высушивали (5–10 мин, 37 °С) в термостате ТМ-2, фиксировали в парах 40%-го раствора формалина (10 мин), окрашивали в водном красителе Романовского – Гимзы (4–5%, pH 6,8).

Используя светооптический иммерсионный микроскоп, проводили анализ клеточного состава с подсчетом не менее 400 клеток в полях зрения (центральная и периферические области), число клеточных элементов выражали в процентах от общего их содержания. Для дифференцированного выявления клеток бокаловидного эпителия применяли цитохимическую реакцию с окраской препаратов, фиксированных в формалине, альциановым синим, электропроводящим муцины (гликопротеины, кислые гликозаминогликаны (ГАГ)), содержащиеся в цитоплазме бокаловидных клеток [13].

Образцы крови были получены путем забора из средней локтевой вены в утренние часы (9.00) в вакутейнер (5 мл) и хранились в замороженном виде (–80 °С) до момента проведения анализа биологических проб. Цитокиновый профиль (IL-4, IFN γ , в пг/мл) исследовали на проточном цитофлуориметре (BD FACSCanto II, BD, США) наборами LEGENDplex HU Essential Immune Response Panel (BioLegend, США) со строгим соблюдением протоколов, представленных производителем.

Все тесты, предусматривающие проведения спирометрии, выполняли на аппарате Easy on-PC (NDD Medizintechnik AG, Швейцария). Измеряли жизненную емкость легких (ЖЕЛ), объемные и скоростные параметры форсированного выдоха: ОФВ₁ (в % долж.), среднюю объемную скорость выдоха на уровне 25–75%-й форсированной ЖЕЛ (СОС_{25–75}, в % долж.), максимальные объемные скорости выдоха на уровне 50% (МОС₅₀, в % долж.), 75% (МОС₇₅, в % долж.) форсированной ЖЕЛ. Использовали должные значения ECSC для лиц европеоидной расы старше 18 лет.

Бронхопровокационную пробу изокапнической гипервентиляции холодным (–20 °С) воздухом (ИГХВ) проводили в режиме субмаксимальной гипервентиляции (60% должной максимальной вентиляции легких) воздушной смесью, содержащей 5% СО₂, в течение 3 мин с индивидуальным подбором глубины и частоты дыхания во время нагрузки. Перед ИГХВ и после нее на 1-й и 5-й мин регистрировали ОФВ₁ (в л). Анализировали максимальные изменения данного показателя после пробы ИГХВ относительно исходного значения, разность полученных фактических величин выражалась в процентах от исходного (Δ ОФВ₁, %). Снижение ОФВ₁ на

10% и более свидетельствовало о наличии у больного синдрома ХГДП [14].

Для статистического анализа полученных результатов проводили проверку на нормальность распределения по критериям Колмогорова – Смирнова, Пирсона – Мизеса. При нормальном (гауссовом) распределении параметров сравнение рядов осуществляли при помощи непарного *t*-критерия Стьюдента (при условии гомогенности дисперсий групп сравнения по критерию Фишера). При распределении параметров, отличном от нормального (негауссовом), использовали критерии Манна – Уитни. Количественные параметры представлены как $M \pm m$ (M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка) или как медиана интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами проводили непараметрический корреляционный анализ по Спирмену (R_s). Критический уровень значимости p менее 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 47 пациентов, включенных в исследование, в 1-ю группу с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей вошли 17 человек, во 2-ю группу – 30 человек, не реагировавших на холодовой триггер. Больные в группах были сопоставимы по полу и основным физиологическим параметрам: возраст $37,1 \pm 3,5$ и $43,2 \pm 2,9$ лет соответственно ($p = 0,188$); рост $174,3 \pm 2,6$ и $170,1 \pm 1,5$ см ($p = 0,151$); индекс массы тела $26,0 \pm 1,5$ и $27,6 \pm 1,2$ кг/м² ($p = 0,419$) соответственно. Курящих пациентов в 1-й группе было 35%, во 2-й – 23% ($\chi^2 = 0,29$; $p > 0,05$).

Группы пациентов существенно различались по ряду скоростных показателей кривой поток – объем форсированного выдоха, исходно зарегистрированных при спирометрическом исследовании (табл. 1).

Таблица 1

Исходные показатели вентилиционной функция легких и реакция бронхов на пробу ИГХВ, $Me [Q_1; Q_3]$				
Показатель	ОФВ ₁ , % долж.	ОФВ ₁ / ЖЕЛ, %	СОС _{25–75} , % долж.	Δ ОФВ ₁ , %
Первая группа	84,0 [83,0; 93,0]	73,0 [70,0; 76,8]	55,0 [51,0; 67,0]	–16,0 [–19,0; –12,0]
Вторая группа	99,0 [85,0; 105,0]	78,1 [72,8; 82,4]	76,0 [59,0; 88,0]	–2,2 [–3,5; 0,2]
<i>P</i> между 1-й и 2-й группами	0,012	0,165	0,021	0,0001

Медианные значения ОФВ₁ и СОС_{25–75} у лиц с ХГДП были достоверно ниже, свидетельствуя об бронхиальной обструкции. У этих больных реги-

стрировались более низкие значения MOC_{50} (60 [56; 87]%) и MOC_{75} (46 [42; 54]%) по сравнению с больными 2-й группы (76 [66; 94]%, $p = 0,021$ и 61 [49; 83]%, соответственно, $p = 0,012$), что могло свидетельствовать о длительной персистенции хронического воспаления в малых дыхательных путях.

При оценке содержания цитокинов в сыворотке крови у больных 1-й группы зарегистрированы более высокие медианные значения IL-4 и IFN γ по отношению ко 2-й группе (табл. 2). В группе больных с ХГДП прослеживалась прямая корреляция между содержанием в крови IL-4 и IFN γ ($R_s = 0,65$; $p = 0,016$). Кроме того, IL-4 обратно коррелировал с реакцией дыхательных путей ($\Delta OFV_1/ЖЕЛ$) на бронхопровокацию ($R_s = -0,70$; $p = 0,007$).

Таблица 2

Содержание IL-4 и IFN γ в сыворотке крови у больных БА, Me [Q_1 ; Q_3], пг/мл			
Показатель	IL-4	IFN	IL-4/IFN γ
Первая группа	11,48 [10,82; 22,48]	26,98 [17,24; 73,51]	0,43 [0,31; 0,70]
Вторая группа	1,88 [0,66; 5,96]	7,24 [1,54; 26,98]	0,16 [0,22; 0,40]
P между 1-й и 2-й группами	0,003	0,047	0,049

В мокроте больных 1-й группы насчитывалось большее число нейтрофилов и десквамированных эпителиоцитов (табл. 3), а содержание нейтрофилов, эозинофилов и макрофагов напрямую влияло на степень выраженности бронхоконстрикторного ответа (ΔOFV_1) при пробе ИГХВ ($R_s = -0,50$; $p = 0,029$; $R_s = -0,51$; $p = 0,027$; $R_s = 0,56$; $p = 0,013$ соответственно). Следует отметить, что в данной группе прослеживалась обратная связь между исходным значением OFV_1 , отражающим бронхиальную проходимость, и найденным в мокроте количеством эпителиоцитов ($R_s = -0,74$; $p = 0,0003$). На рис. 1, 2 представлена различная степень деструктивных изменений в эпителиальных клетках.

Таблица 3

Клеточный состав индуцированной мокроты больных БА, Me [Q_1 ; Q_3], %				
Показатель	Нейтро- филы	Макро- фаги	Эозино- филы	Эпителио- циты
Первая группа	22,5 [19,5; 26,3]	54,7 [45,6; 66,8]	19,8 [12,6; 21,2]	1,6 [1,2; 2,7]
Вторая группа	16,9 [15,4; 20,0]	60,4 [56,9; 67,6]	17,0 [3,0; 21,3]	0,2 [0,1; 1,0]
P между 1-й и 2-й группами	0,049	0,119	0,112	0,0013

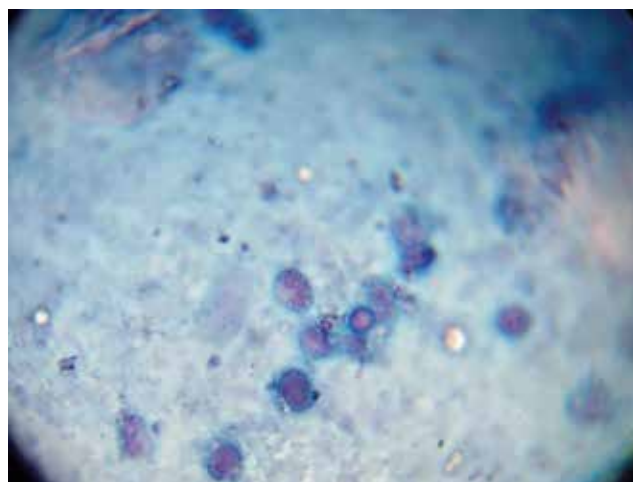


Рис. 1. В центре препарата клетки бокаловидного эпителия с разной степенью выраженности деструкции цитоплазмы и ядра. По направлению к периферическим участкам полностью разрушенные эпителиоциты с распадом ядра и цитоплазмы, содержащие муцины. Здесь и на рис. 2 мазок индуцированной мокроты больного БА с ХГДП. Окраска альциановым синим. $\times 1\,250$

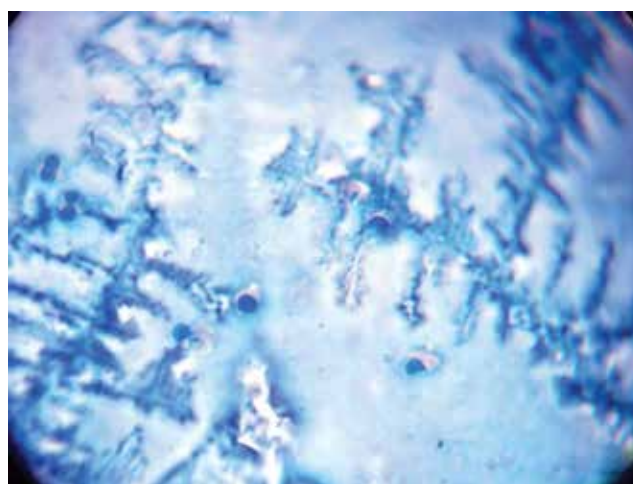


Рис. 2. Бокаловидные клетки, содержащие большое количество мукопротеинов, располагаются среди обилия слизи с явлениями биокристаллизации

ОБСУЖДЕНИЕ

Ремоделирование дыхательных путей при БА, затрагивающее все отделы стенки мелких бронхов, поражает соединительнотканную основу вследствие расщепления, фрагментации и гомогенизации металлопротеиназами ее волокнистого каркаса, гиперпродукции и накопления протеогликанов, повышения фибробластического синтеза и снижения деградационных процессов внеклеточного матрикса, фибриллогенеза, развития субэпителиального фиброза и диффузного склероза. Этот процесс затрагивает гладкомышечные клетки, трансформирующиеся из контрактиль-

ного в секреторный и пролиферативный фенотипы в результате гипертрофии и гиперплазии, происходящих на фоне дифференцировки миофибробластов и усиления ангиогенеза, опосредованного высвобождением фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF). Развиваются и нарушения эпителиальной выстилки в виде деструкции и десквамации клеток с оголением гиалинизированной базальной мембраны, разрушением реснитчатого эпителия, бокаловидно-клеточной гиперплазии и метаплазии [2, 4].

IL-4 и IFN γ , одной из основных функций которых считается взаимное ингибирование, относятся к широкому спектру цитокинов, участвующих в нарушении структурной целостности эпителиального барьера и вызывающих развитие эпителиальной дисфункции бронхов [3]. В настоящей работе мы наблюдали увеличение содержания IL-4 и IFN γ у больных с ХГДП относительно пациентов, не ответивших на бронхопровокацию холодным воздухом (см. табл. 2). С активностью IFN γ связано ослабление атопического фенотипа БА [6, 9] ввиду важнейшего противодействия сигнального пути IFN γ /STAT1 (путь T-bet) экспрессии фактора транскрипции GATA-3, супрессирующего развитие Th1 и активирующего пролиферацию Th2 [8–10]. IL-4 индуцирует STAT6-зависимую экспрессию GATA-3, вследствие чего подавляются специфичные факторы транскрипции типа Th1, синтезируются Th2 цитокины, развивается ассоциированное с аллергией эозинофильное воспаление, стимулируются разрушение, секреторная гиперплазия и цилиарная недостаточность эпителия, сопровождая гиперреактивность и ремоделирование дыхательных путей при БА [2, 11, 15].

Широко изученным эффектом воздействия индуцируемых IL-4 цитокинов Th2 на бронхиальный эпителий больных БА является гиперпродукция слизи [3, 15]. Усиленная экспрессия и секреция муцинов MUC5AC, продуцируемого бокаловидными клетками, и MUC5B, синтезируемого железистым эпителием, нарастающих по мере утяжеления течения болезни, сопровождается нарушением циркуляции тканевой жидкости в бронхах, дегидратацией муцинового геля, повышением его вязкости за счет увеличения уровня хондроитинсульфатов, снижения уровня гиалуроновой кислоты и гепарина в составе муцинов, более прочным связыванием геля с поверхностью эпителия. Показано, что низкая температура воздуха индуцирует гиперсекрецию MUC5AC бронхиальным эпителием, благодаря термочувствительным катионным каналам TRPM8 [16].

Как установлено в проведенных нами ранее исследованиях, больные БА с ХГДП характеризуются повышенной базовой концентрацией гликопротеи-

нов и ГАГ в выстилке бронхов. После пробы ИГХВ одновременно с увеличением количества бокаловидных клеток и генерации в них мукополисахаридов возрастают дезорганизация и десквамация эпителия, деструкция и цитоллиз мукоцитов [17]. При длительном холодном воздействии *in vitro* регистрируются выраженные деструктивные изменения реснитчатых эпителиоцитов, дающих положительную реакцию на мукоид, и обилие слизистого секрета, содержащего большое количество ГАГ и микроорганизмов на поверхности эпителиального пласта [17, 18].

Предполагается, что слизистые реснитчатые клетки являют собой присущий исключительно дыхательным путям астматиков молекулярный фенотип мерцательных эпителиоцитов, способных экспрессировать MUC5AC и другие гены бокаловидного эпителия. Такие метаплазированные клетки, образование которых индуцируется передачей сигналов IL4/IL13, экспрессируют IL4/IL13-индуцированные гены и рассматриваются как переходные от фенотипа цилиарного эпителия к фенотипу секреторных клеток [2]. С функцией IL4/IL13 при астме связаны стимуляция передачи сигналов Notch и высокие уровни сигнального пути Notch, приводящие к активации дифференцировки и увеличению числа бокаловидных клеток, продуцирующих слизь [15].

У исследуемых нами пациентов с ХГДП проследивалась различная степень деструктивных изменений эпителиальных клеток, синтезирующих и секретирующих гликопротеины: от легкой, с частичным (не более 1/2) деструктивным повреждением цитоплазмы и сохранением нормальной структуры ядра, до степени полной деструкции с распадом цитоплазмы и ядра (см. рис. 1). В случае, когда в мазках ИМ обнаруживались тотально разрушенные клетки, в цитоплазме которых выявлялись муцины (см. рис. 1), распознать их дифференцировку по бокаловидному или исходно реснитчатому, метаплазированному в секреторный, типу бронхиального эпителия было затруднительно или невозможно. Нахождение у больных 1-й группы скоплений бокаловидных клеток, содержащих большое количество мукопротеинов, располагающихся среди обильного вязкого слизистого секрета (см. рис. 2), свидетельствовало о развитии выраженной мукоцилиарной дисфункции, усугубляющей ремоделирование и обструкцию дыхательных путей и ассоциированного с повышением концентрации IL-4 в цитокиновом профиле пациентов.

Десквамация эпителия у больных БА с ХГДП по сравнению с аналогичным процессом у пациентов без холодовой бронхоконстрикции протекала более интенсивно: в индуцированной мокроте больных 1-й группы десквамированных эпителиоцитов на-

считывалось больше, чем у больных 2-й группы (см. табл. 3), что указывало на усиление повреждения межклеточных контактов и повышение проницаемости эпителиального барьера бронхов при ХГДП. К регулирующим межклеточный транспорт и опосредующим межклеточную адгезию контактам в бронхиальном эпителии относятся плотные соединения (TJs), которые находятся в апикальной части покровного слоя, содержат белки клаудины, окклюдина и соединительные молекулы адгезии (JAM), образуя многобелковый соединительный комплекс *zonula occludens* (ZO); адгезивные соединения (AJs), содержащие кадгерины и катенины; десмосомы, обеспечивающие связь промежуточных филаментов соседних клеток; гемидесмосомы, обеспечивающие прикрепление базальных клеток и других эпителиоцитов к базальной мембране [6, 15].

Потеря ряда белков межэпителиальных контактов TJs и AJs рассматривается в качестве одной из ключевых особенностей развития гиперреактивности и ремоделирования дыхательных путей при астме [2, 6]. С дефицитом E-кадгерина как основного мембранного белка AJs связывают десквамацию мерцательных клеток, оголение базальной мембраны, индукцию пролиферации клубных клеток с одновременным подавлением их дифференцировки, обуславливающим нарушение восстановления поврежденного эпителия, развитие провоспалительных и дисрегенераторных реакций в дыхательных путях [2].

Доказано, что IL-4 и IL-13 играют центральную роль в ингибировании поверхностной экспрессии в бронхиальных эпителиоцитах белка плотных контактов ZO-1, окклюдина, α -катенина, β -катенина, а также E-кадгерина, снижение уровня которого в мокроте коррелирует с тяжестью астмы [6]. Клинические выводы об участии IL-4 в нарушении эпителиального барьера дыхательных путей совпадают с данными исследований *in vitro*, свидетельствующими об ингибировании цитокином экспрессии мембранных компонентов AJs: воздействуя на апикальный и базолатеральный монослой культуры эпителиальных клеток, IL-4 усиливает их парацеллюлярную проницаемость и снижает трансэпителиальную резистентность [19].

Более высокая концентрация IL-4, обнаруженная нами у исследуемых больных 1-й группы по сравнению с уровнем IL-4 у больных 2-й группы, может расцениваться в качестве пускового механизма эскалации барьерной дисфункции и ремоделирования бронхов у пациентов с ХГДП, ассоциированного с аллергическим воспалением типа Th2. Наряду с этим, исходя из факта сопряженности реакции бронхов на холодовой стимул с Th1 иммунным ответом,

нельзя обойти вниманием роль IFN γ в развитии и усугублении ремоделирования бронхов и его связь с уровнем нейтрофилов, количество которых в клеточном составе мокроты больных с ХГДП было выше (см. табл. 3).

IFN γ маркирует Th1 иммунный ответ при неаллергическом фенотипе БА, ассоциированном с персистенцией хронического воспаления, увеличением выживаемости нейтрофилов и активацией нейтрофильного компонента воспаления при снижении активности атопического компонента, что выступает фактором развития резистентности к терапии ИГКС [20]. Мобилизация нейтрофильного пула у пациентов с ХГДП была связана с индукцией IFN γ транскрипции целевых генов провоспалительных цитокинов и хемокинов, рекрутирующих в инфильтрат бронхов нейтрофилы. Нейтрофильная инфильтрация стимулировала персистенцию хронического воспаления с исходом в диффузный интерстициальный склероз, приводящий к модификации структуры бронхов, прогрессированию обструкции дыхательных путей с их ремоделированием.

Причастность IFN γ к разрушению бронхиального эпителия также обуславливалась воздействием провоспалительных цитокинов, экспрессируемых под влиянием IFN γ , и агрессивным воздействием оксидантов, токсических метаболитов и активных форм кислорода, образующихся в дыхательных путях при холод-индуцированном оксидативном стрессе. Критическим фактором свободнорадикального повреждения эпителия служит активация респираторного взрыва в макрофагах, стимулируемая IFN γ посредством индукции цитозольных компонентов NADPH-оксидазы [8, 10, 21, 22] и связанная с IFN γ -регулируемой дифференцировкой фагоцитов. При взаимодействии IFN γ с соответствующим рецептором в макрофагах запускается передача сигналов пути T-bet, активирующая гены-мишени STAT1 [22, 23] и поляризующая интерстициальные макрофаги легких, взаимодействующие с нейтрофилами в каскаде экспрессируемых Th1/Th17 цитокинами воспалительных реакций, в классический воспалительный фенотип M1 [23, 24].

Возможной причиной найденных в мокроте больных с ХГДП более низких медианных значений макрофагов (см. табл. 3) мог стать цитолиз как результат интенсифицированного респираторного взрыва, индуцированного IFN γ . Эскалация провоспалительной и прооксидантной функции IFN γ у этих больных свидетельствовала о смещении баланса активации Th2 цитокинов, регулируемых сигналами IL-4 и отвечающих за структурную реорганизацию стенки бронхов, в сторону Th1 иммунного ответа, разделя-

ющего с иммунным ответом Th2 ответственность за ремоделирование бронхов при астме у лиц с ХГДП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей регистрируются более высокие уровни IL-4, ассоциированного с повышением десквамации и деструкции, признаками выраженной секреторной активности клеток бронхиального эпителия, и IFN γ , сопряженного с мобилизацией нейтрофильного пула и возрастанием количества нейтрофилов в воспалительном паттерне бронхов. Явления десквамации, деструкции, бокаловидноклеточной гиперплазии и метаплазии, гиперпродукции мукопротеинов в эпителии бронхов, стимулированные активацией IL-4 и усиливающие мукоцилиарную и барьерную дисфункции, опосредуют у больных БА с ХГДП более выраженные нарушения бронхиальной проходимости.

Эскалация провоспалительной и прооксидантной функции IFN γ у больных БА с ХГДП свидетельствует о смещении баланса активации Th2 цитокинов, регулируемых сигналами IL-4 и традиционно отвечающих за структурную реорганизацию стенки бронхов астматиков, в сторону Th1 иммунного ответа, стимулирующего ремоделирование бронхов при астме с ХГДП.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Russell R.J., Boulet L.-P., Brightling C.E., Pavord I.D., Porsbjerg C., Dorscheid D. et al. The airway epithelium: an orchestrator of inflammation, a key structural barrier and a therapeutic target in severe asthma. *Eur. Respir. J.* 2024;63(4):2301397. DOI: 10.1183/13993003.01397-2023.-
- Heijink I.H., Kuchibhotla V.N.S., Roffel M.P., Maes T., Knight D.A., Sayers I. et al. Epithelial cell dysfunction, a major driver of asthma development. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020;75(8):1902–1917. DOI: 10.1111/all.14421.
- Savin I.A., Zenkova M.A., Sen'kova A.V. Bronchial asthma, airway remodeling and lung fibrosis as successive steps of one process. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(22):16042. DOI: 10.3390/ijms242216042.
- Varricchi G., Brightling C.E., Grainge C., Lambrecht B.N., Chanez P. Airway remodelling in asthma and the epithelium: on the edge of a new era. *Eur. Respir. J.* 2024;63(4):2301619. DOI: 10.1183/13993003.01619-2023.
- Murphy R.C., Lai Y., Liu M., Al-Shaikhly T., Altman M.C., Altemeier W.A. et al. Distinct epithelial-innate immune cell transcriptional circuits underlie airway hyperresponsiveness in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2023;207(12):1565–1575. DOI: 10.1164/rccm.202209-1707OC.
- Frey A., Lunding L.P., Ehlers J.C., Weckmann M., Zissler U.M., Wegmann M. More than just a barrier: The immune functions of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Front. Immunol.* 2020;11:761. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00761.
- Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Перельман Ю.М. Клинические и патогенетические аспекты нейтрофильного воспаления бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (обзор литературы). *Бюллетень сибирской медицины.* 2023;22(1):143–152. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-1-143-152.
- Schroder K., Hertzog P.J., Ravasi T., Hume D.A. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leuk. Biol.* 2004;75(2):163–189. DOI: 10.1189/jlb.0603252.
- Ray A., Raundhal M., Oriss T.B., Ray P., Wenzel S.E. Current concepts of severe asthma. *J. Clin. Invest.* 2016;126(7):2394–2403. DOI: 10.1172/JCI84144.
- Луцкий А.А., Жирков А.А., Лобзин Д.Ю., Пао М., Алексеева Л.А., Мейер М. и др. Интерферон- γ : биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа. *Журнал инфектологии.* 2015;7(4):10–22. DOI: 10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22.
- Junttila I.S. Tuning the cytokine responses: An update on interleukin (IL)-4 and IL-13 receptor complexes. *Front. Immunol.* 2018;9:888. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00888.
- Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (2023 update). Accessed August 07, 2023. URL: https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2023/07/GINA-2023-Full-report-23_07_06-WMS.pdf
- Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике; под ред. А.И. Карпищенко. 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012:472.
- Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011:204.
- Hellings P.W., Steelant B. Epithelial barriers in allergy and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020;145(6):1499–1509. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.04.010.
- Li M., Li Q., Yang G., Kolosov V.P., Perelman J.M., Zhou X.D. Cold temperature induces mucin hypersecretion from normal human bronchial epithelial cells *in vitro* through a transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8)-mediated mechanism. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011;128(3):626–634. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.04.032.
- Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В., Чжоу С.Д., Ли Ц. Изменения бокаловидного эпителия в ответ на холодовую бронхопровокацию у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2018;(68):8–16. DOI: 10.12737.article_5b188b4bad3200.10559927.
- Целуйко С.С. Ультраструктурная организация мукоцилиарного клиренса в норме и при холодовом воздействии. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2009;(33):7–12.
- Bahman S., Rezaee F., Desando S., Emo J., Chapman T., Knowlden S. et al. Interleukin-4 and interleukin-13 cause barrier dysfunction in human airway epithelial cells. *Tissue Barriers.* 2013;1(2):e24333. DOI: 10.4161/tisb.24333.
- Zhang X., Xu Z., Wen X., Huang G., Nian S., Li L. et al. The

- onset, development and pathogenesis of severe neutrophilic asthma. *Immunol. Cell Biol.* 2022;100(3):144–159. DOI: 10.1111/imcb.12522.
21. Thind M.K., Uhlig H.H., Glogauer M., Palaniyar N., Bourdon C., Gwela A. et al. A metabolic perspective of the neutrophil life cycle: new avenues in immunometabolism. *Front. Immunol.* 2024;14:1334205. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1334205.
22. Žaloudíková M. Mechanisms and effects of macrophage polarization and its specifics in pulmonary environment. *Physiol. Res.* 2023;72(Suppl. 2):S137–S156. DOI: 10.33549/physiol-res.935058.
23. Li M., Wang M., Wen Y., Zhang H., Zhao G.-N., Gao Q. Signaling pathways in macrophages: molecular mechanisms and therapeutic targets. *MedComm.* 2023;4(5):e349. DOI: 10.1002/mco2.349.
24. Arora S., Dev K., Agarwal B., Das P., Ali Syed M. Macrophages: Their role, activation and polarization in pulmonary diseases. *Immunobiology.* 2018;223(4):383–396. DOI: 10.1016/j.imbio.2017.11.001.

Вклад авторов

Пирогов А.Б. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Приходько А.Г. – анализ и обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального материала. Пирогова Н.А. – анализ литературных данных, написание статьи. Наумов Д.Е. – анализ и интерпретация данных, проведение биохимических исследований. Гассан Д.А. – проведение биохимических исследований. Перельман Ю.М. – проверка критически важного интеллектуального материала, окончательное утверждение для публикации рукописи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Информация об авторах

Пирогов Алексей Борисович – канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, dncfpd@dncfpd.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5846-3276>

Приходько Анна Григорьевна – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, prih-anya@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2847-7380>

Пирогова Наталья Алексеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, dncfpd@dncfpd.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6350-7392>

Гассан Дина Анатольевна – канд. мед. наук, зав. лабораторией механизмов вирус-ассоциированных патологий развития, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, dani-shi@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3718-9962>

Наумов Денис Евгеньевич – канд. мед. наук, зав. лабораторией молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, denn1985@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3921-8755>

Перельман Юлий Михайлович – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. лабораторией функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, jperelman@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9411-7474>

(✉) Перельман Юлий Михайлович, jperelman@mail.ru

Поступила в редакцию 09.07.2024;
одобрена после рецензирования 23.07.2024;
принята к публикации 12.09.2024