

УДК 612.112.95.014.469:613.842

DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ306495>

# Анализ влияния сигаретного дыма на сигнальные пути врожденной иммунной системы в моноцитах периферической крови

С. Н. Котляров✉, И. А. Сучков, О. М. Урясьев, Е. Н. Якушева, А. В. Шулькин,  
А. А. Котлярова

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Рязань, Российская Федерация

## АННОТАЦИЯ

**Введение.** Табакокурение является важной медицинской проблемой, так как оказывает существенное влияние на развитие и прогрессирование хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). Компоненты табачного дыма могут инициировать и поддерживать локальное и системное воспаление с участием моноцитов и макрофагов.

**Цель.** Изучить молекулярные механизмы, связанные с воздействием сигаретного дыма на сигнальные пути врожденной иммунной системы в моноцитах периферической крови.

**Материалы и методы.** С помощью методов *in silico* анализа были идентифицированы гены, связанные с воздействием табачного дыма. На основе полученных данных для исследования *in vitro* была создана клеточная модель воспаления с использованием экстракта сигаретного дыма и моноцитов периферической крови, выделенных методом иммуномагнитной сепарации. Был применен набор для иммуноферментного анализа (ELISA) с целью измерения концентрации фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) в супернатантах клеток и Толл-подобного рецептора 4 (TLR4), АТФ-связывающего кассетного транспортера А1 (ABCA1) в гомогенатах клеточных мембран нативных моноцитов и моноцитов, подвергнутых воздействию 4% экстракта сигаретного дыма. Эти данные сравнивались с уровнями TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TLR4 и ABCA1 в моноцитах периферической крови пациентов с ХОБЛ с фенотипом частых обострений и облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОААНК). Статистическая обработка и визуализация данных проводились с использованием программного обеспечения MedCalc 20.1.4 и R (версия 4.2.2).

**Результаты.** Табачный дым связан с сигнальными путями TLR4, TNF- $\alpha$  и обменом липидов. Экстракт сигаретного дыма повышал экспрессию провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в супернатантах клеток, повышал уровень TLR4 и снижал уровень ABCA1 в плазматических мембранах моноцитов периферической крови. У пациентов с ХОБЛ с фенотипом частых обострений и ОААНК показаны повышение уровней провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в супернатантах клеток, повышение уровня TLR4 и снижение уровня ABCA1 в плазматических мембранах моноцитов периферической крови по сравнению с нативными моноцитами здоровых людей.

**Заключение.** Сигаретный дым способствует усилению продукции провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , увеличению уровней белка TLR4 и снижению количества транспортера ABCA1 в мембранах моноцитов периферической крови. Это может частично объяснить причину влияния сигаретного дыма на развитие заболеваний легких и сердечно-сосудистой системы. ХОБЛ с фенотипом частых обострений и ОААНК характеризуются усилением воспаления с участием моноцитов.

**Ключевые слова:** курение; хроническая обструктивная болезнь легких; воспаление; моноциты; врожденная иммунная система

## Для цитирования:

Котляров С.Н., Сучков И.А., Урясьев О.М., Якушева Е.Н., Шулькин А.В., Котлярова А.А. Анализ влияния сигаретного дыма на сигнальные пути врожденной иммунной системы в моноцитах периферической крови // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2023. Т. 31, № 3. С. 391–404. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ306495>

DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ306495>

# Analysis of Influence of Cigarette Smoke on Signaling Pathways of Innate Immune System in Monocytes of Peripheral Blood

Stanislav N. Kotlyarov✉, Igor' A. Suchkov, Oleg M. Uryas'yev, Elena N. Yakusheva, Aleksey V. Shchul'kin, Anna A. Kotlyarova

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Tobacco smoking is an important medical problem since it has a significant impact on the development and progression of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The components of tobacco smoke can initiate and support local and systemic inflammation with participation of monocytes and macrophages.

**AIM:** To study molecular mechanisms associated with the impact of cigarette smoke on signaling pathways of the innate immune system in monocytes of peripheral blood.

**MATERIALS AND METHODS:** The methods of *in silico* analysis was used to identify genes associated with the impact of tobacco smoke. On the basis of the data obtained, a cellular model of inflammation was created *in vitro* using tobacco smoke extract and monocytes of peripheral blood isolated by immunomagnetic separation. An enzyme-linked immunoassay (ELISA) kit was used to measure the concentration of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in cell supernatants, and of Toll-like receptor 4 (TLR4), ATP-binding cassette A1 (ABCA1) in homogenates of cell membranes of native monocytes and monocytes exposed to 4% tobacco smoke extract. These data were compared with the levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TLR4 and ABCA1 in monocytes of peripheral blood of patients with COPD with frequent exacerbation phenotype and with obliterating atherosclerosis of lower limb arteries (OALLA). For statistical processing and visualization of the data, MedCalc 20.1.4 and R (version 4.2.2) software was used.

**RESULTS:** Tobacco smoke influences TLR4, TNF- $\alpha$  signaling pathways and lipid metabolism. Cigarette smoke extract enhanced the expression of proinflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in cell supernatants, increased the level of TLR4 and decreased that of ABCA1 in plasmolemma of monocytes of peripheral blood. In patients with COPD with frequent exacerbation phenotype and with OALLA, there were shown increase in the levels of proinflammatory TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  cytokines in cell supernatants, increase in the level of TLR4 and reduction of the level of ABCA1 in plasmolemma of monocytes of peripheral blood compared to native monocytes of healthy individuals.

**CONCLUSION:** Cigarette smoke enhances the production of proinflammatory TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  cytokines, increases the levels of TLR4 protein and reduces the amount of ABCA1 transporter in membranes of monocytes of peripheral blood. This may partially explain the cause of the influence of cigarette smoke on development of the pulmonary and cardiovascular diseases. COPD with frequent exacerbation phenotype and OALLA are characterized by enhancement of inflammation with participation of monocytes.

**Keywords:** *smoking; chronic obstructive pulmonary disease; inflammation; monocytes; innate immune system*

## For citation:

Kotlyarov SN, Suchkov IA, Uryas'yev OM, Yakusheva EN, Shchul'kin AV, Kotlyarova AA. Analysis of Influence of Cigarette Smoke on Signaling Pathways of Innate Immune System in Monocytes of Peripheral Blood. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2023;31(3):391–404. DOI: <https://doi.org/10.17816/PAVLOVJ306495>

Received: 02.03.2023

Accepted: 11.07.2023

Published: 30.09.2023

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АССЗ — атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания  
 ДИ — доверительный интервал  
 КВВ — конденсат выдыхаемого воздуха  
 ЛПНП — липопротеины низкой плотности  
 ЛПС — липополисахарид  
 ОААНК — облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей  
 ОФВ1 — объем форсированного выдоха за первую секунду  
 СД — сигаретный дым  
 ФЖЕЛ — форсированная жизненная емкость легких  
 ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких  
 ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота  
 ABCA1 — ATP binding cassette subfamily A member 1 (АТФ-связывающий кассетный транспортер А1)  
 CD — cluster of differentiation (кластер дифференцировки)  
 CSE — cigarette smoke extract (экстракт сигаретного дыма)  
 CTD — Comparative Toxicogenomics Database (База данных сравнительной токсикогеномики)  
 FDR — false discovery rate (частота ложных обнаружений)  
 GEO — the gene expression omnibus database (база данных по экспрессии генов)  
 GO — gene ontology (генная онтология)  
 GOLD — Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (Глобальная инициатива против хронической обструктивной болезни легких)

HIF-1 — hypoxia-inducible factor-1 (фактор, индуцируемый гипоксией-1)  
 IL-1 $\beta$  — Interleukin-1 $\beta$  (интерлейкин 1 бета)  
 KEGG — Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (Киотская энциклопедия генов и геномов)  
 NCBI — The National Center for Biotechnology Information (Национальный центр биотехнологической информации, США)  
 NF kappa B — nuclear factor kappa B (ядерный фактор каппа В)  
 NLRP3 — NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3 (пириновый домен семейства NOD-подобных рецепторов)  
 NOD — nucleotide-binding oligomerization domain (нуклеотид-связывающий олигомеризирующий домен)  
 PAD — peripheral artery disease (периферический атеросклероз)  
 PPI — protein-protein Interaction (белок-белковые взаимодействия)  
 STRING — search tool for the retrieval of interacting genes database (поисковый инструмент для извлечения базы данных взаимодействующих генов)  
 TF-IDF — term frequency — inverse document frequency (частота термина и обратная частота документа)  
 TLR4 — toll-like receptor 4 (толл-подобный рецептор 4)  
 TNF — tumor necrosis factor (фактор некроза опухоли)  
 TNF $\alpha$  — tumor necrosis factor alpha (фактор некроза опухоли альфа)  
 UMAP — uniform manifold approximation and projection (аппроксимация и проекция однородного многообразия)

## ВВЕДЕНИЕ

Курение табака признается глобальной проблемой современного человечества из-за его высокой распространенности и участия в развитии многих заболеваний, таких, например, как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ). ХОБЛ входит в число ключевых причин заболеваемости, нетрудоспособности и смертности, причем эти показатели на сегодняшний день не имеют тенденций к снижению, что усиливает внимание к проблеме. Важно отметить, что ХОБЛ редко протекает изолированно, особенно среди пациентов старших возрастных групп, а часто ассоциируется с рядом коморбидных патологий, таких как атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания (АССЗ), которые вносят весомый вклад в характер течения ХОБЛ и ее прогноз. Считается, что ХОБЛ имеет множественные перекрестные связи с АССЗ, среди которых ведущая роль отводится *системному воспалению* [1]. При этом курение рассматривается в качестве ключевого фактора риска ХОБЛ, тогда как раннее прекращение курения считается эффективной терапевтической стратегией, которая может уменьшить локальное и системное воспаление.

Сигаретный дым (СД) содержит несколько тысяч химических веществ, в том числе окислителей и свободных радикалов, высокое содержание которых может превышать механизмы антиоксидантной защиты

организма. СД оказывает многогранное негативное влияние, вызывая развитие окислительного стресса, воспаления и нарушения метаболических процессов не только в легких, но и *на системном уровне*.

Растущее число доказательств свидетельствует о важной роли нарушений врожденной иммунной системы в развитии и прогрессировании как ХОБЛ, так и атеросклероза. Врожденная иммунная система использует множество разнообразных механизмов, в которых участвуют различные клетки, такие как макрофаги. Курение табака рассматривается как важный фактор, способствующий активации и поддержанию воспаления с участием макрофагов, которые активно вовлечены в патогенез как ХОБЛ, так и АССЗ [2]. Моноциты, которые являются предшественниками макрофагов, характеризуются различной иммунометаболической поляризацией, что может иметь значение для их последующей роли в воспалении [3].

Важный иммунный механизм, в котором участвует СД, связан с активацией рецепторов врожденной иммунной системы, таких как толл-подобные рецепторы (англ.: *toll-like receptor 4*, TLR4). TLR4, наиболее известный представитель этого семейства рецепторов, распознает липополисахариды (ЛПС) клеточной стенки грамотрицательных бактерий, а в легких может активироваться либо ЛПС, либо экзогенными окислителями и, следовательно, модулировать воспалительные

реакции. Компоненты СД, включающие ЛПС, также способны активировать TLR4 и его нижестоящие сигнальные пути, способствующие выработке цитокинов. Сигнальный путь TLR4 рассматривается как один из ключевых механизмов активации и поддержания воспаления в дыхательных путях при ХОБЛ [4].

Помимо активации TLR4, СД способствует активации сигнальных путей нуклеотид-связывающий олигомеризующий домен-подобных рецепторов (англ.: *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain-containing 3*, NLRP3). NLRP3 инфламасома представляет собой большой молекулярный белковый комплекс, который действует как платформа для созревания провоспалительных цитокинов, в т. ч. интерлейкина  $1\beta$  (англ.: *Interleukin-1\beta*, IL-1 $\beta$ ). IL-1 $\beta$  играет важную роль в развитии ХОБЛ и атеросклероза. IL-1 $\beta$  участвует в развитии эмфиземы наряду с фактором некроза опухоли альфа (англ.: *tumor necrosis factor alpha*, TNF- $\alpha$ ), который является еще одним важным для ХОБЛ цитокином [5]. Уровни TNF- $\alpha$  повышаются в сыворотке крови курильщиков по сравнению с некурящими, что свидетельствует о важной провоспалительной роли TNF- $\alpha$  [6].

Еще одним провоспалительным механизмом, в котором участвует табачный дым, является модификация липидного состава плазматических мембран клеток, в т. ч. макрофагов [7]. В этой связи необходимо отметить, что функция мембранных белков, к числу которых относится TLR4, связана с липидным составом плазматических мембран макрофагов. Эти и другие данные усиливают понимание значимости перекрестных связей между липидтранспортными механизмами и врожденной иммунной системой в миелоидных клетках. АТФ-связывающий кассетный транспортер A1 (англ.: *ATP binding cassette subfamily A member 1*, ABCA1) является важным участником этих связей, за счет его роли в экспорте холестерина из клетки, что влияет на мембранную локализацию и активацию пути TLR4 [8]. Таким образом, курение является важным механизмом инициализации и поддержания воспаления с помощью нескольких механизмов.

**Цель** — изучить молекулярные механизмы, связанные с воздействием сигаретного дыма на сигнальные пути врожденной иммунной системы в моноцитах периферической крови.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Идентификация воспалительных сигнальных путей, связанных с курением.** Целевые белки для исследования влияния СД были идентифицированы с использованием Базы данных сравнительной токсикогеномики (англ.: *Comparative Toxicogenomics Database*, CTD). Полученные из базы данных гены были проанализированы путем построения сети белок-белковых

взаимодействий с помощью поискового инструмента для извлечения базы данных взаимодействующих генов STRING версия 11.5, которые анализировались с помощью Cytoscape версия 3.9.1 и плагинов Network Analyzer и cytoHubba с использованием алгоритма топологического анализа Maximal Clique Centrality. Анализ функционального обогащения наиболее значимых генов проведен с использованием инструментов ShinyGO и Enrichr.

**Характеристика пациентов.** Исследование проведено на моноцитах периферической крови, полученных от 10 здоровых добровольцев и 10 пациентов с ХОБЛ с фенотипом частых обострений и ОААНК. Диагноз ХОБЛ устанавливался в соответствии с критериями глобальной инициативы против хронической обструктивной болезни легких (англ.: *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*, GOLD) на основании спирометрических данных. Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей (ОААНК) был подтвержден данными клинического и ультразвукового исследования (аппарат Accuvix V10 Medison, Южная Корея) и соответствовал стадии IIБ по классификации А. В. Покровского–Фонтейна, что являлось критерием включения в исследование. В исследование включались только лица мужского пола для того, чтобы нивелировать влияние на результаты исследования гендерных различий в ответе иммунной системы при воздействии экстракта СД.

В исследование **не включались пациенты**, имеющие острые инфекционные заболевания, почечную и печеночную недостаточность, онкологические заболевания, бронхиальную астму, осуществляющие постоянный прием противовоспалительных средств, в т. ч. системных глюкокортикостероидов.

**Критериями включения** в группу здорового контроля являлись:

- отсутствие бронхообструктивных заболеваний;
- отсутствие клинически манифестированных форм атеросклероза любой локализации.

Демографические и клинико-функциональные характеристики здоровых лиц из контрольной группы и пациентов с ХОБЛ и ОААНК приведены в таблице 1. Пациенты из обеих групп имели сопоставимый возраст ( $p > 0,05$ ). В то время как здоровые лица не курили ранее, пациенты с ХОБЛ имели стаж курения 37,6 (95% доверительный интервал (ДИ) 32,1; 43,1) пачек-лет и продолжали курить на момент включения в исследование.

Обострениями ХОБЛ считались усиление двух и более основных симптомов, таких как одышка, гнойность мокроты, объем мокроты или ухудшение любого одного основного симптома, появление дополнительного симптома (боль в горле, выделения из носа и/или заложенность носа, лихорадка без других причин, кашель или хрипы) в течение  $\geq 2$  последовательных

**Таблица 1.** Характеристика групп пациентов, включенных в исследование

Параметры	Здоровые	Пациенты с хронической обструктивной болезнью легких и облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей
n	10	10
Возраст, лет	62,6 (95% ДИ 60,07; 65,13)	63,4 (95% ДИ 59,32; 67,48)
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	27,02 (95% ДИ 25,67; 28,38)	27,19 (95% ДИ 24,37; 30,01)
Стадия хронической обструктивной болезни легких	нет	3,0 (95% ДИ 2,42; 3,58)
Индекс пачек-лет	0	37,6 (95% ДИ 32,1; 43,1)
Объем форсированного выдоха за первую секунду, % от должных	98,35 (95% ДИ 96,98; 99,71)	44,23 (95% ДИ 34,33; 54,13)

дней. В соответствии с клиническими рекомендациями по ХОБЛ, одобренными Научно-практическим Советом Минздрава России, частыми считаются обострения, которые отмечаются  $\geq 2$  в год. В текущем исследовании пациенты с ХОБЛ и ОААНК имели  $\geq 3$  обострений в год (среднее число обострений составило 3,1 (95% ДИ 2,96; 3,24) в год).

Клиническое обследование пациентов и лиц из группы контроля включало проведение спирометрии на спирометре MIR SPIROLAB I (Medical International Research, Италия). При этом рассчитывались должные значения объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) с учетом пола, возраста, роста и этнических групп.

При включении в исследование обязательным условием было добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом Рязанского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова (Протокол № 12 от 10.06.2020).

**Получение клеток и ход эксперимента.** Моноциты были получены из периферической крови, которая забиралась из локтевой вены с использованием стерильных вакуумных пробирок (Еламед, Россия), содержащих этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА). Моноциты выделялись методом бесколоночной иммуномагнитной сепарации с помощью EasySep (Stemcell Technologies Inc., Канада). Для этой цели использовался набор EasySep™ для выделения CD14+CD16- моноцитов (Stemcell Technologies Inc., Канада). Полученные моноциты помещались в стерильные 96-луночные планшеты для клеточных культур и инкубировались в CO<sub>2</sub>-инкубаторе WS-189C (World Science, Корея) при 100% влажности и 37°C в течение 24 ч в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, модифицированная по способу Дульбекко среда Игла) с высоким содержанием глюкозы (4500 мг/л) с добавлением L-глутамин (4 мМ), 15% эмбриональной бычьей сыворотки, 100 ед./

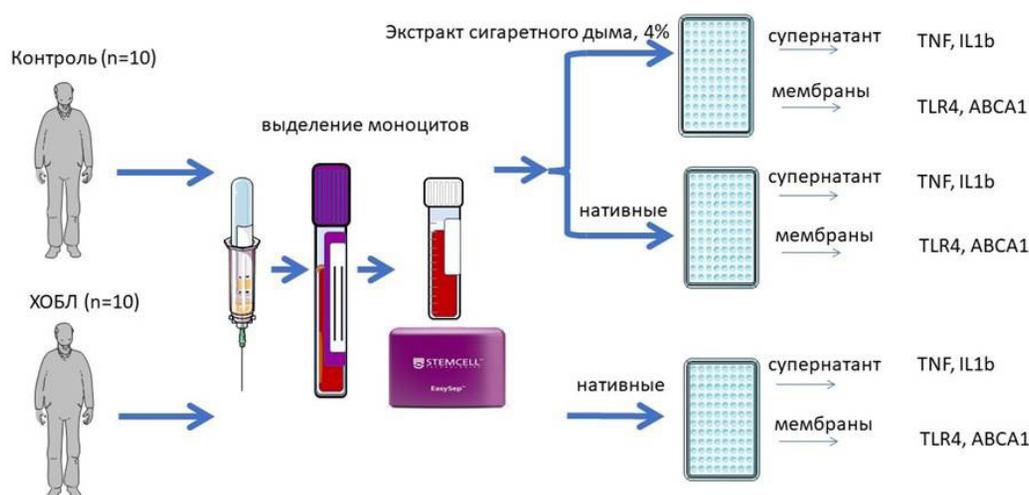
мл и 100 мкг/мл пенициллина и стрептомицина (Sigma-Aldrich, США).

Первая часть исследования предполагала разделение моноцитов, полученных от здоровых добровольцев на 2 экспериментальные группы, одну из которых подвергали воздействию экстракта СД в течение 24 ч (группа экстракта СД) и интактную группу моноцитов (группа контроля), которую инкубировали без внешних воздействий (рис. 1).

Вторая часть исследования предполагала получение моноцитов от пациентов с ХОБЛ с фенотипом частых обострений и ОААНК. Выделенные моноциты инкубировали в течение 24 ч без внешних воздействий.

**Получение экстракта СД.** Экстракт СД получали непосредственно перед применением. Для этой цели сигарета устанавливалась в один конец полимерной трубки, другой конец которой помещался в пробирку с 5 мл физиологического раствора с фосфатным буфером. Из этой пробирки через другую полимерную трубку откачивался воздух с помощью шприца объемом 150 мл, что создавало тягу СД в пробирку и находящийся в ней физиологический раствор с фосфатным буфером. При необходимости повторного перемещения поршня шприца использовался роликовый зажим на полимерной трубке. Полученный из 5 сигарет раствор считался 100% исходным раствором, который пропорционально разбавляли до получения 4% раствора экстракта СД, использовавшегося в клеточном эксперименте. Концентрацию экстракта СД рассчитывали спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность при длине волны 320 нм (SmartSpec Plus, Bio-RAD, США).

**Имуноферментный анализ.** Высвобождение моноцитами TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  в культуральную среду определяли количественно (пг/мл) с использованием соответствующего набора ELISA в соответствии с указаниями производителя набора (Cloud-Clone Corp., Китай). Уровни TLR4 и ABCA1 определяли с помощью набора ELISA (нг/мл), следуя протоколу производителя (Cloud-Clone



**Рис. 1.** Дизайн исследования.

*Примечания:* ABCA1 — ATP binding cassette subfamily A member 1 (АТФ-связывающий кассетный транспортер А1); TLR4 — Toll-like receptor 4 (Толл-подобный рецептор 4); IL-1 $\beta$  — interleukin-1 $\beta$  (интерлейкин-1 $\beta$ ); TNF — tumor necrosis factor (фактор некроза опухоли), ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких..

Согр., Китай) в мембранной фракции гомогената клеток, полученного с помощью высокоскоростной центрифуги (Avanti JXN-30, Beckman Coulter, США). Для этой цели после окончания экспозиции клетки снимали с лунок планшетов раствором трипсин-ЭДТА (0,25% трипсина и 0,2% ЭДТА, Sigma-Aldrich, США), трижды промывали раствором фосфатного буфера (BioRad, США) и лизировали в NP40 Cell Lysis Buffer Thermo (Thermo Fisher Scientific, США). Полученный лизат центрифугировали при 5000 g. Супернатант использовали для выполнения анализов. Количество белка в пробах анализировали по методу Брэдфорда (Pierce Coomassie Plus (Bradford) Assay Kit, ThermoFisher, США). Все образцы исследовали с соответствующими стандартами на 96-луночных микропланшетах с использованием планшетного иммуноферментного анализатора Stat Fax-2100, США.

Статистическая обработка и визуализация данных проводились с использованием программного обеспечения MedCalc 20.1.4 и R (версия 4.2.2). Переменные сравнивались с помощью t-теста Стьюдента или U-теста Манна-Уитни или Крускала-Уоллиса (ANOVA) после оценки критериев с помощью параметрических тестов. Критический уровень значимости  $p < 0,05$  считался статистически значимым. Данные представлены с указанием 95% ДИ среднего значения. При визуализации данных использовались значения —  $\log_{10}$  от полученных значений в соответствующих единицах измерения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

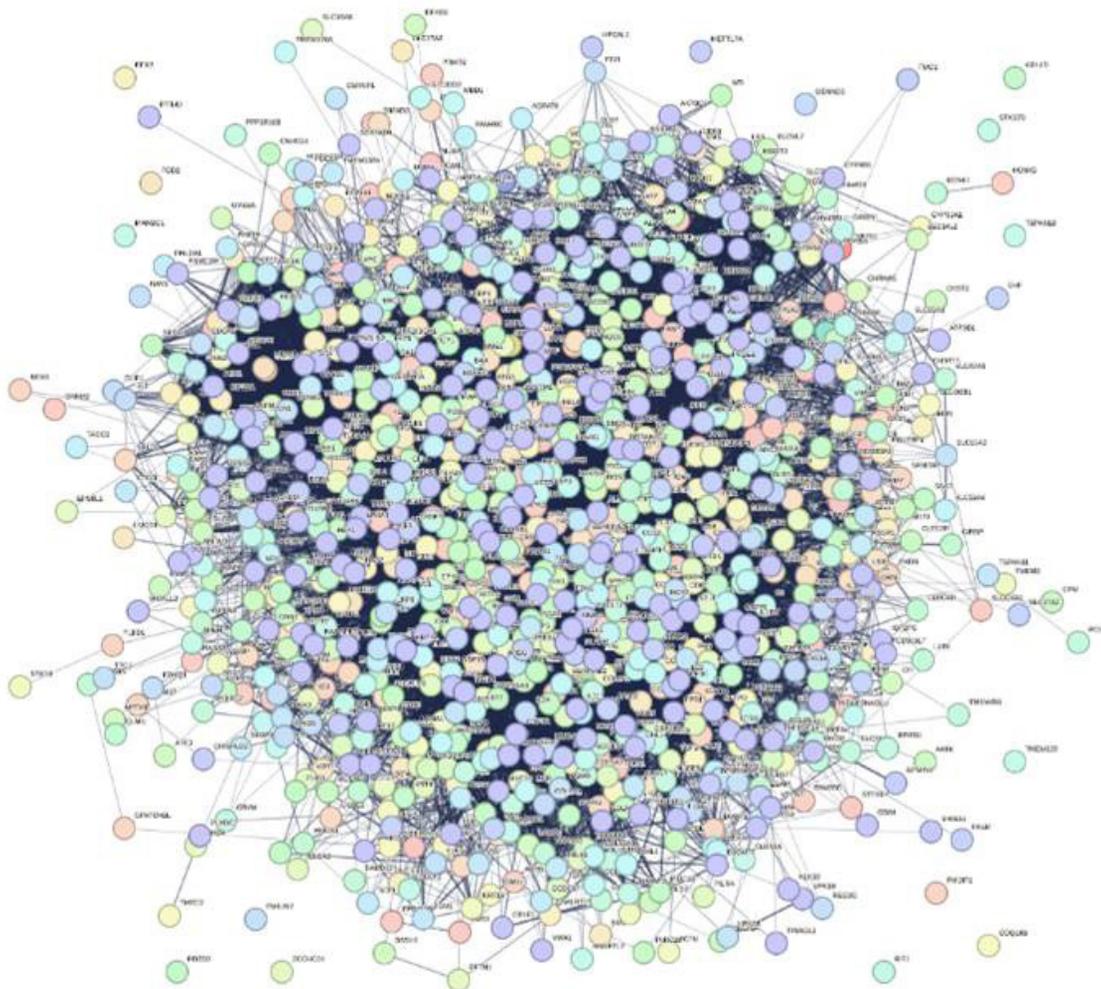
**Идентификация воспалительных сигнальных путей, связанных с курением.** Для идентификации воспалительных сигнальных путей, связанных

с курением, из CTD были получены гены, которые связаны с табачным дымом. Были идентифицированы 1075 генов, имеющих коэффициент взаимодействий  $\geq 5$ . На основании этих данных были построены сети белок-белковых взаимодействий с использованием инструмента STRING с минимально необходимым показателем взаимодействия 0,4.

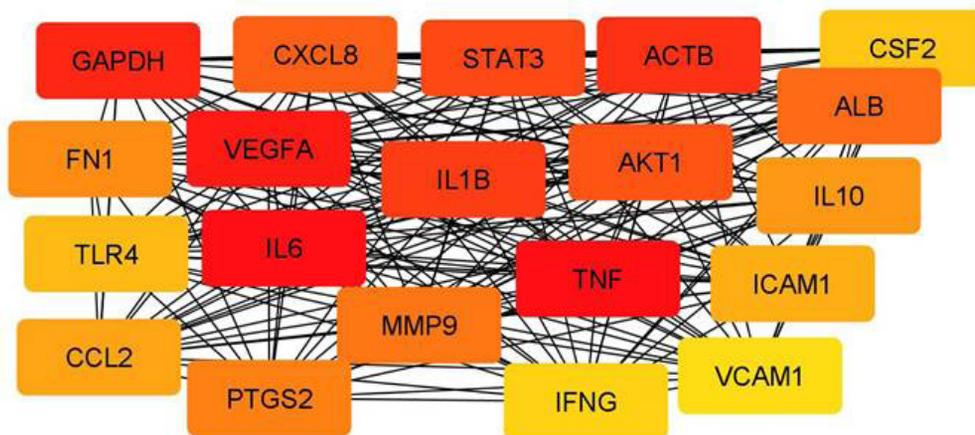
Полученные сети были проанализированы с помощью Cytoscape ver. 3.9.1, в результате чего было идентифицировано 20 наиболее значимых генов (рис. 3). Далее проведен анализ их функционального обогащения по биологическим процессам и путям согласно Киотской энциклопедии генов и геномов (англ.: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG; рис. 4).

Как следует из рисунка 4 наиболее значимые гены, связанные с курением, были вовлечены в следующие *биологические процессы*:

- процесс биосинтеза оксида азота (GO:0006809);
- клеточный ответ на липополисахарид (GO:0032496);
- положительную регуляцию клеточной миграции (GO:0030335);
- цитокин-опосредованный сигнальный путь (GO:0019221);
- миграцию лейкоцитов (GO:0050900);
- ангиогенез (GO:0001525);
- воспалительный ответ (GO:0006954);
- клеточный ответ на цитокиновый стимул (GO:0071345);
- ответ на липиды (GO:0033993);
- клеточный ответ на кислородсодержащие соединения (GO:1901701);
- клеточный ответ на химический стимул (GO:0070887);
- процессы иммунной системы (GO:0002376).

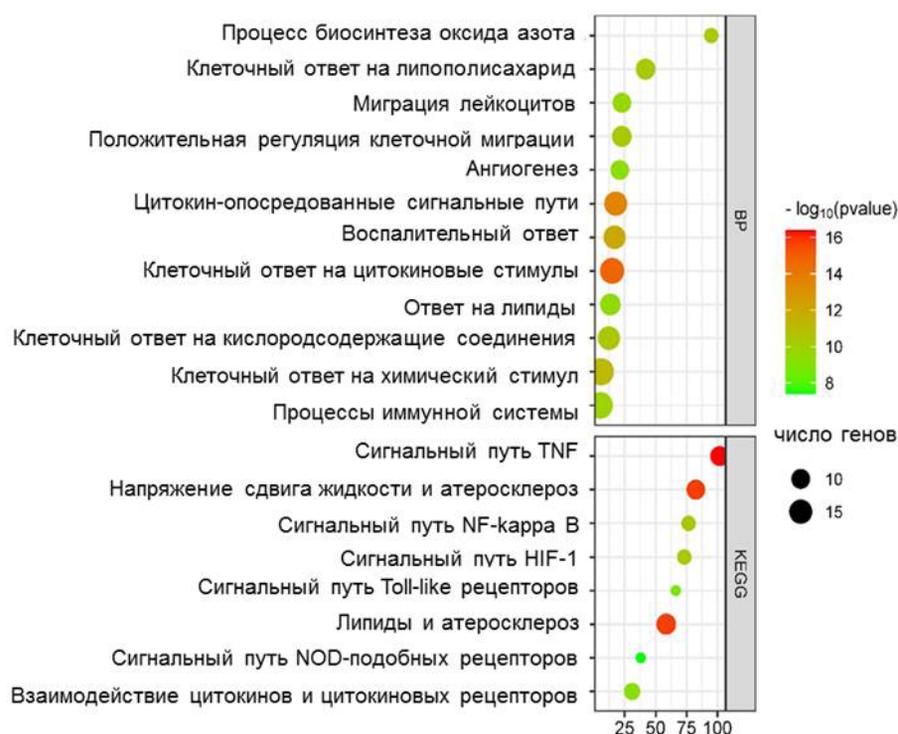


**Рис. 2.** Сети белок-белковых взаимодействий для генов, связанных с воздействием табачного дыма.



**Рис. 3.** Идентифицированные наиболее значимые гены, связанные с воздействием табачного дыма.

*Примечание:* наиболее важные гены ранжированы следующим образом: самые важные гены выделены красным цветом, менее важные гены — оранжевым, еще менее важные гены — желтым.



**Рис. 4.** Идентифицированные биологические процессы (BP) и сигнальные пути по Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG). *Примечания:* TNF — tumor necrosis factor (фактор некроза опухоли), HIF-1 — hypoxia-inducible factor-1 (фактор, индуцируемый гипоксией-1), NF kappa B — nuclear factor kappa B (ядерный фактор каппа В), NOD — nucleotide-binding oligomerization domain (нуклеотид-связывающий олигомеризующий домен).

При этом наиболее значимыми KEGG путями являлись:

- сигнальный путь толл-подобных рецепторов (hsa04620);
- сигнальный путь фактора некроза опухоли (англ.: *tumor necrosis factor*, TNF) (hsa04668);
- сигнальный путь фактора, индуцируемого гипоксией-1 (англ.: *hypoxia-inducible factor-1*, HIF-1) (hsa04066);
- сигнальный путь NF-kappa B (hsa04064);
- напряжение сдвига жидкости и атеросклероз (hsa05418);
- липиды и атеросклероз (hsa05417);
- взаимодействие цитокинов и цитокиновых рецепторов (hsa04060);
- сигнальный путь NOD (англ.: *nucleotide-binding oligomerization domain*, нуклеотид-связывающий олигомеризующий домен)-подобных рецепторов (hsa04621).

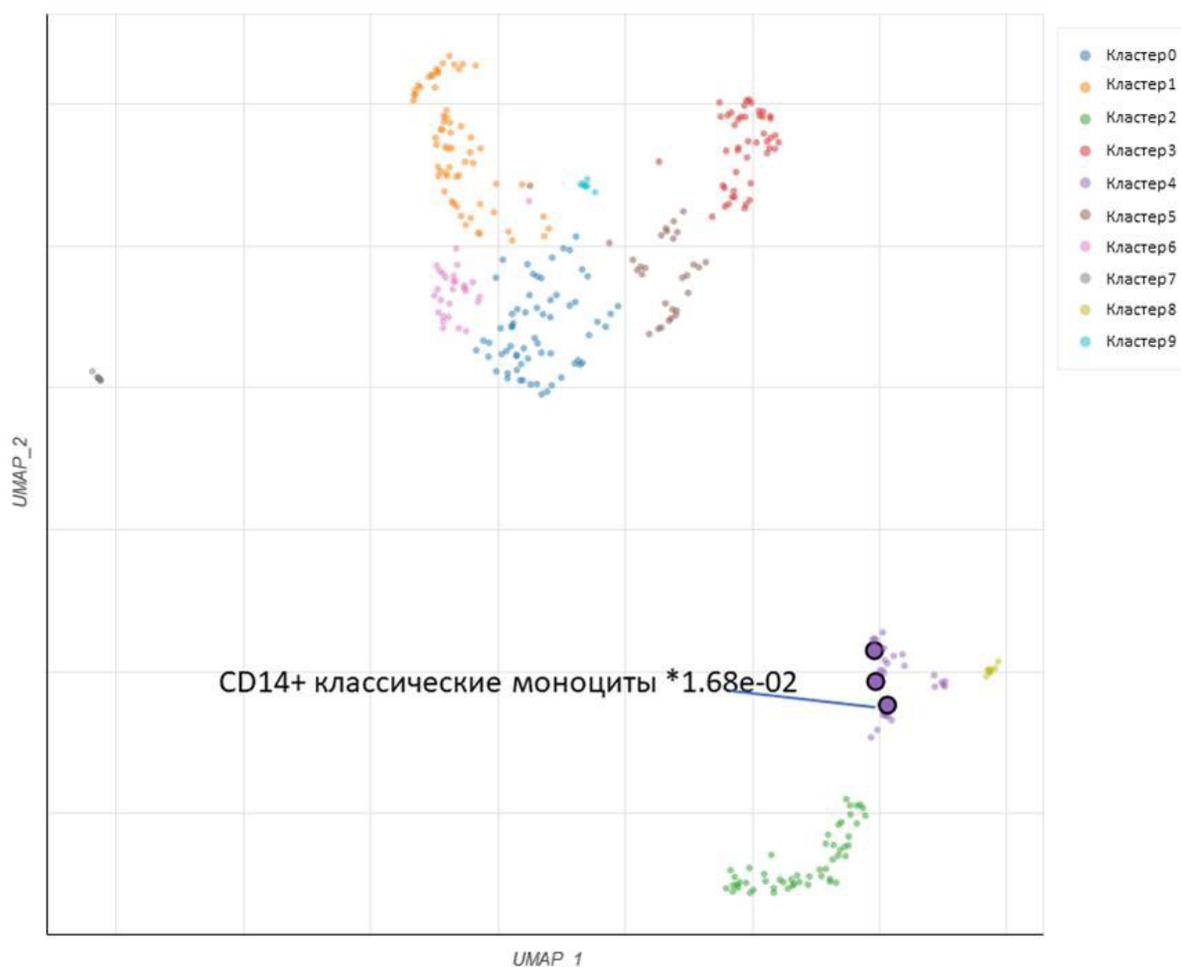
Эти данные свидетельствуют о влиянии табачного дыма на иммунные процессы и обмена липидов, что имеет важное значение для ХОБЛ и ее коморбидного течения с атеросклерозом.

Далее с использованием полученных данных из библиотеки Azimuth cell type 2021 в Enrichr были идентифицированы типы клеток, связанные с наиболее

значимыми генами. Среди представленных на рисунке 5 кластеров Лейдена, характеризующих различные типы клеток, наиболее значимыми клетками, связанными с идентифицированными генами, были CD14+ классические моноциты (рис. 5).

Таким образом, табачный дым связан с активацией многих сигнальных путей, среди которых важное значение имеют пути врожденного иммунитета. Эти данные позволяют включить для дальнейшего анализа TLR4, TNF, IL-1 $\beta$  и ABCA1 в классических (CD14+) моноцитах.

**Влияние экстракта СД на провоспалительные сигнальные пути.** Сравнительный анализ уровней TLR4 в мембранной фракции моноцитов показал, что воздействие экстракта СД на моноциты способствовало ЛПС-независимой экспрессии TLR4 (fold change = 1,4271,  $p = 0,00014$ ) в плазматических мембранах (рис. 6). Это подтверждают сведения о том, что курение может стимулировать активацию провоспалительного пути TLR4 рецептора в моноцитах/макрофагах. Сравнение уровней TLR4 в мембранах моноцитов пациентов с ХОБЛ показало, что уровни TLR4 были повышены в плазматических мембранах моноцитов у больных ХОБЛ с фенотипом частых обострений в сочетании с ОААНК по сравнению с интактными моноцитами группы контроля



**Рис. 5.** Диаграмма с типами клеток, связанными с идентифицированными генами.

*Примечание:* Каждая точка на графике представляет собой термин в библиотеке. Значения частоты термина и обратной частоты документа (англ.: *term frequency-inverse document frequency*, TF-IDF) были рассчитаны для набора генов, соответствующих каждому термину, и UMAP (англ.: *uniform manifold approximation and projection*, аппроксимация и проекция однородного многообразия) был применен к полученным значениям. Термины построены на основе первых двух измерений UMAP. Термины окрашены в цвета автоматически определенных кластеров, вычисленных с помощью алгоритма Лейдена, примененного к значениям TF-IDF. Цветом выделены 10 кластеров Лейдена в соответствии с записями в библиотеке Azimuth cell type 2021. Более темным цветом и крупным размером показаны значительно обогащенные термины.

(fold change = 1,3150,  $p < 0,005$ ). Данные о ЛПС-независимой активации TLR4 при курении представляют клинический интерес, так как они могут быть частью некоторых звеньев в сложной цепи процессов, связывающих ХОБЛ и атеросклероз. В этой связи данные о повышении мембранных уровней белка TLR4 в моноцитах при фенотипе ХОБЛ с частыми обострениями и ОААНК могут свидетельствовать о более высоком уровне системного воспаления у этих пациентов в сравнении со здоровым контролем.

Сообщалось, что табачный дым активирует ряд внутриклеточных сигнальных путей, связанных с продукцией провоспалительных цитокинов. Проведенный нами анализ показал, что воздействие экстракта СД

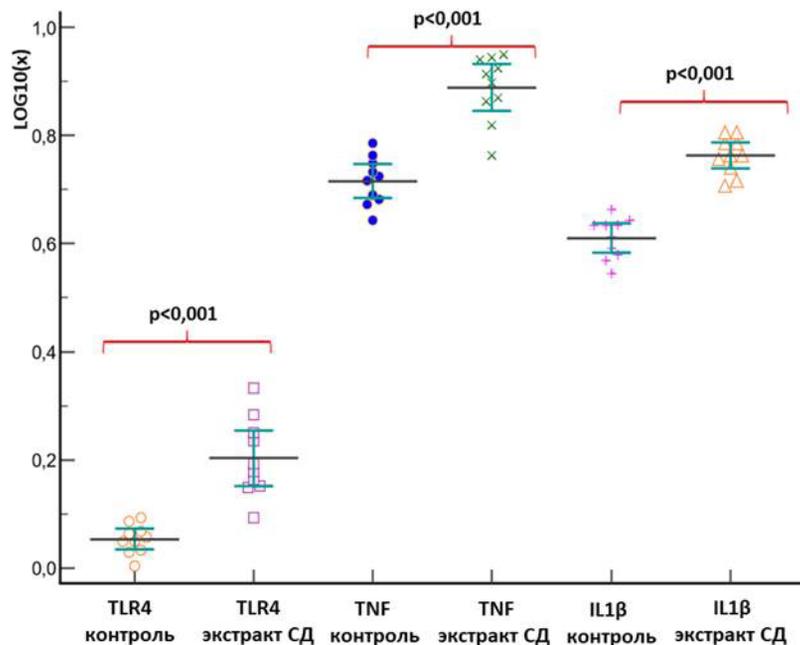
на моноциты увеличивало продукцию TNF $\alpha$  (fold change = 1,4942,  $p = 0,0066$ ) и IL1 $\beta$  (fold change = 1,42,  $p < 0,0001$ ), определяемых в супернатанте моноцитов (рис. 6).

Эти данные свидетельствуют о важной роли СД, способствующего активации сигнального пути TLR и продукции провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , которые вовлечены в патогенез как ХОБЛ, так и атеросклероза.

Влияние экстракта СД на мембранные уровни ABCA1 и TLR4. Проведенный дальнейший анализ показал, что воздействие СД приводило к снижению мембранных уровней ABCA1 транспортера по сравнению с контролем (fold change = -1,7582,  $p < 0,001$ ) (рис. 7). Были также показаны более низкие уровни ABCA1 в плазматических

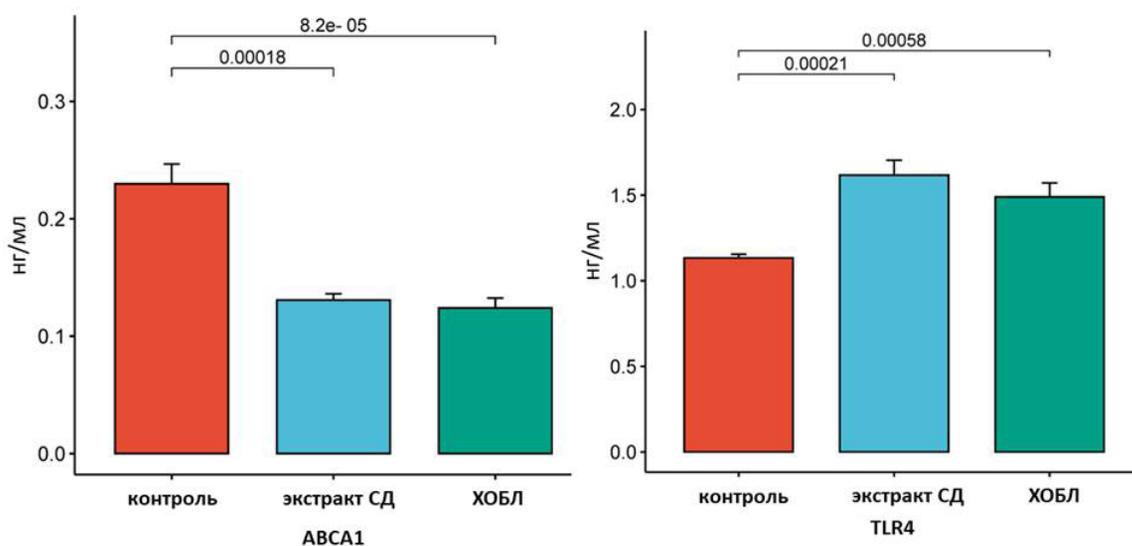
мембранах макрофагов у больных ХОБЛ с фенотипом частых обострений в сочетании с ОААНК по сравнению с группой контроля (fold change = -1,8532,  $p < 0,005$ ).

Полученные результаты соответствуют данным о снижении количества белка ABCA1 в макрофагах курильщиков по сравнению с некурящими [9].



**Рис. 6.** График изменений уровней TLR4, TNF и IL1β до и после обработки экстрактом сигаретного дыма.

*Примечания:* контроль — группа контроля, экстракт СД — группа воздействия экстракта СД; данные приведены в виде —  $\log_{10}$  от значений; СД — сигаретный дым, TLR4 — toll-like receptor 4 (толл-подобный рецептор 4), TNFα — tumor necrosis factor alpha (фактор некроза опухоли альфа), IL-1β — Interleukin-1β (интерлейкин 1 бета).



**Рис. 7.** График изменений относительного количества белка ABCA1 и TLR4 в плазматической мембране моноцитов в группах сравнения.

*Примечания:* экстракт СД — группа воздействия экстракта СД, ХОБЛ — группа ХОБЛ с фенотипом частых обострений в сочетании с ОААНК; ОААНК — облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей, СД — сигаретный дым, ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких, ABCA1 — ATP binding cassette subfamily A member 1 (АТФ-связывающий кассетный транспортер А1), TLR4 — toll-like receptor 4 (толл-подобный рецептор 4).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании нами была проведена оценка молекулярных механизмов, связанных с воздействием СД на сигнальные пути врожденной иммунной системы в моноцитах периферической крови. На первом этапе методами биоинформационного анализа были идентифицированы сигнальные пути и цитокины, которые связаны с воздействием СД. Затем в опыте *in vitro* оценивалась выработка TNF- $\alpha$  и IL1 $\beta$  моноцитами периферической крови, выделенными с помощью иммуномагнитной сепарации. В исследование включены моноциты здоровых добровольцев, которые были разделены на две группы: одна группа подвергалась 24-часовому воздействию свежеприготовленного 4% раствора экстракта СД, а вторая группа представляла интактные моноциты, которые инкубировались 24 ч. В дополнение к этому в исследование были включены моноциты периферической крови пациентов с ХОБЛ с фенотипом частых обострений и ОААНК, в плазматических мембранах моноцитов которых оценивалось количество белка ABCA1 и TLR4.

Нами было установлено, что действие СД связано с активацией провоспалительных сигнальных путей и нарушением липидного обмена. Эти провоспалительные сигнальные пути включали сигнальный путь Toll-like рецепторов, сигнальный путь TNF, сигнальный путь NF- $\kappa$ B, сигнальный путь NOD-подобных рецепторов. Также было показано, что ключевые гены, вовлеченные во многие из этих важных биологических процессов, были связаны с классическими моноцитами.

В опыте *in vitro* нами было обнаружено, что стимуляция макрофагов экстрактом СД приводит к усилению высвобождения TNF- $\alpha$  и IL1 $\beta$  в культуральную среду, увеличению мембранных уровней TLR4 и уменьшению мембранных уровней ABCA1. При этом в мембранной фракции моноцитов периферической крови пациентов с ХОБЛ с фенотипом частых обострений и ОААНК обнаружены более высокие уровни TLR4 и более низкие уровни ABCA1 по сравнению с контролем.

Полученные результаты дополняют сведения о том, что курение может способствовать активации и поддержанию воспаления через сигнальный путь TLR4 [10].

Известно, что СД содержит большое количество различных химических веществ и является источником большого количества свободных радикалов. Воздействие СД вызывает окислительный стресс и влияет на функцию врожденной иммунной системы. Острое воздействие СД вызывает воспалительную реакцию, способствует рекрутированию нейтрофилов и макрофагов в дыхательные пути [11, 12]. Моноциты и дифференцирующиеся из них макрофаги играют важную роль в патогенезе заболеваний, связанных с курением, таких как ХОБЛ, а также участвуют в развитии атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний [13,

14]. При этом макрофаги вовлечены во все стадии прогрессирования атеросклеротического поражения.

Предыдущие исследования показали, что острая реакция моноцитов на СД характеризуется воспалительной реакцией с участием сигнального пути TLR [8, 15, 16]. Поэтому мы предположили, что СД будет восприниматься моноцитами как провоспалительный стимул, приводящий к усилению продукции цитокинов, таких как TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ . Известно, что TNF $\alpha$  является провоспалительным цитокином, который считается ключевым медиатором воспаления и играет важную роль как в иммунной защите организма, так и патогенезе ряда хронических заболеваний [17, 18]. Считается, что повышенные уровни TNF $\alpha$  могут быть связаны с саркопенией и мышечной слабостью у пациентов с ХОБЛ [19]. Ранее было показано, что уровни TNF $\alpha$  в сыворотке крови были значительно выше в группе курильщиков по сравнению с группой некурящих и были связаны с количеством выкуриваемых сигарет в день [6]. Исследования *in vitro* показали, что конденсат СД стимулирует моноциты к экспрессии TNF- $\alpha$  [15].

IL-1 $\beta$ , который представляет собой типичный цитокин врожденного иммунитета, участвует в инициации и поддержании воспаления и является ключевым медиатором нейтрофильного воспаления дыхательных путей при ХОБЛ [20, 21]. Было показано, что уровни IL-1 $\beta$  значительно повышены в эпителиальных клетках малых дыхательных путей при ХОБЛ. Кроме того, уровни IL-1 $\beta$  в жидкости бронхоальвеолярного лаважа повышаются у курильщиков по сравнению с некурящими [22]. Необходимо отметить, что IL-1 $\beta$  также является важным участником развития атеросклероза, где он способствует повышенной экспрессии факторов адгезии и хемокинов.

Перекрестные связи липидтранспортной функции ABCA1 и врожденной иммунной системы вызывают растущий интерес [8]. Снижение экспрессии и функциональной активности ABCA1 приводит к активации механизмов врожденной иммунной системы через перегрузку макрофагов холестерином и изменению латеральной липидной организации плазматической мембраны и, соответственно, функции локализованных в ней рецепторов, таких как TLR4. Ранее было показано, что уровни белка ABCA1 снижались в макрофагах пациентов с атеросклерозом, что может приводить к нарушению их липидтранспортной функции [23]. Кроме того, в предыдущих исследованиях было показано, что уровень экспрессии ABCA1 был ниже в макрофагах у курильщиков (как с ишемической болезнью сердца, так и без нее), чем у некурящих [9]. Эти результаты показывают, что длительное курение сигарет нарушает отток холестерина из макрофагов, опосредованный ABCA1. Это имеет большое клиническое значение, обеспечивая связь с сигнальным путем TLR4, который является одним из наиболее известных рецепторов врожденной иммунной системы.

Уровни экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты TLR4 в мононуклеарных клетках периферической крови были выше у курильщиков, чем у некурящих. Однако эти уровни снижались через 2 мес. после прекращения курения [15]. Кроме того, стимуляция макрофагов, происходящих из моноцитов человека, средой с экстрактом СД приводит к активации NF kappa B через путь TLR4 [4]. Кроме того, TLR4 опосредует продукцию интерлейкина 8 в макрофагах при курении, что обеспечивает рекрутирование новых иммунных клеток [4].

Полученные в текущем исследовании данные усиливают понимание роли курения в активации иммунных механизмов с участием моноцитов периферической крови, что имеет важное клиническое значение. Эти данные дополняют понимание механизмов коморбидных связей между ХОБЛ и атеросклерозом при курении.

Необходимо отметить, что текущее исследование имеет некоторые ограничения, такие как небольшая выборка пациентов, а также ограниченность целей для анализа. Перспективными направлениями будущих исследований является оценка механизмов вовлечения врожденной иммунной системы в клинически гетерогенное течение ХОБЛ, а также связи этих механизмов с тяжестью ХОБЛ и ОААНК. Кроме того, представляют интерес данные о характере изменений иммунных механизмов при прекращении курения. Оценка клинического значения полученных данных также представляется перспективным направлением будущих исследований. Таким образом, текущее исследование позволило идентифицировать молекулярные механизмы влияния СД на сигнальные пути врожденной иммунной системы в моноцитах периферической крови, вовлеченных в патогенез ХОБЛ и ОААНК, такие как путь TLR4 рецептора, IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ , а также ABCA1, играющий важную роль в перекрестных связях метаболизма и врожденного иммунитета.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, сигаретный дым участвует в активации провоспалительных иммунных механизмов, что может иметь значение для развития хронической обструктивной болезни легких и атеросклероза. Полученные данные дополняют сведения о механизмах участия сигаретного дыма в качестве важного фактора риска хронических заболеваний.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНО

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Вклад авторов:** *Котляров С. Н.* — разработка концепции и дизайна исследования, проведение основных этапов эксперимента, анализ и интерпретация данных, написание текста; *Сучков И. А.* — разработка концепции, редактирование; *Урясьев О. М., Якушева Е. Н.* — редактирование; *Щулькин А. В.* — проведение и оценка биохимических анализов; *Котлярова А. А.* — проведение основных этапов эксперимента, анализ и интерпретация данных. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

**Funding.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflicts of interests.

**Contribution of the authors:** *S. N. Kotlyarov* — concept and design of study, conducting the main stages of the experiment, data analysis and interpretation, writing the text; *I. A. Suchkov* — concept of study, editing; *O. M. Uryas'yev, E. N. Yakusheva* — editing; *A. V. Shchul'kin* — conducting and evaluating biochemical analyses; *A. A. Kotlyarova* — conducting the main stages of the experiment, data analysis and interpretation. The authors confirm the correspondence of their authorship to the ICMJE International Criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Brassington K., Selemidis S., Bozinovski S., et al. Chronic obstructive pulmonary disease and atherosclerosis: common mechanisms and novel therapeutics // *Clin. Sci. (Lond.)*. 2022. Vol. 136, No. 6. P. 405–423. doi: [10.1042/CS20210835](https://doi.org/10.1042/CS20210835)
2. Yang D.C., Chen C.–H. Cigarette Smoking–Mediated Macrophage Reprogramming: Mechanistic Insights and Therapeutic Implications // *J. Nat. Sci.* 2018. Vol. 4, No. 11. P. e539.
3. Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., et al. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm // *J. Immunol.* 2000. Vol. 164, No. 12. P. 6166–6173. doi: [10.4049/jimmunol.164.12.6166](https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.12.6166)
4. Karimi K., Sarir H., Mortaz E., et al. Toll-like receptor-4 mediates cigarette smoke-induced cytokine production by human macrophages // *Respir. Res.* 2006. Vol. 7, No. 1. P. 66. doi: [10.1186/1465-9921-7-66](https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-66)
5. Churg A., Zhou S., Wang X., et al. The role of interleukin-1beta in murine cigarette smoke-induced emphysema and small airway remodelling // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2009. Vol. 40, No. 4. P. 482–490. doi: [10.1165/rcmb.2008-00380C](https://doi.org/10.1165/rcmb.2008-00380C)
6. Petrescu F., Voican S.C., Silosi I. Tumor necrosis factor-alpha serum levels in healthy smokers and non-smokers // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2010. Vol. 5. P. 217–222. doi: [10.2147/copd.s8330](https://doi.org/10.2147/copd.s8330)
7. Hannan S.E., Harris J.O., Sheridan N.P., et al. Cigarette smoke alters plasma membrane fluidity of rat alveolar macrophages // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1989. Vol. 140, No. 6. P. 1668–1673. doi: [10.1164/ajrccm/140.6.1668](https://doi.org/10.1164/ajrccm/140.6.1668)
8. Sonett J., Goldklang M., Sklepiewicz P., et al. A critical role for ABC transporters in persistent lung inflammation in the development

- of emphysema after smoke exposure // *FASEB J.* 2018. Vol. 32, No. 12. P. fj201701381. doi: [10.1096/fj.201701381](https://doi.org/10.1096/fj.201701381)
9. Song W., Wang W., Dou L.-Y., et al. The implication of cigarette smoking and cessation on macrophage cholesterol efflux in coronary artery disease patients // *J. Lipid Res.* 2015. Vol. 56, No. 3. P. 682–691. doi: [10.1194/jlr.P055491](https://doi.org/10.1194/jlr.P055491)
10. Kotlyarov S. Analysis of differentially expressed genes and signaling pathways involved in atherosclerosis and chronic obstructive pulmonary disease // *Biomol. Concepts.* 2022. Vol. 13, No. 1. P. 34–54. doi: [10.1515/bmc-2022-0001](https://doi.org/10.1515/bmc-2022-0001)
11. Stämpfli M.R., Anderson G.P. How cigarette smoke skews immune responses to promote infection, lung disease and cancer // *Nat. Rev. Immunol.* 2009. Vol. 9, No. 5. P. 377–384. doi: [10.1038/nri2530](https://doi.org/10.1038/nri2530)
12. Lugg S.T., Scott A., Parekh D., et al. Cigarette smoke exposure and alveolar macrophages: mechanisms for lung disease // *Thorax.* 2022. Vol. 77, No. 1. P. 94–101. doi: [10.1136/thoraxjnl-2020-216296](https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-216296)
13. Шустова С.А., Мирошкина Т.А. Защитные механизмы легких // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2020. Т. 28, № 4. С. 567–577. doi: [10.23888/PAVLOVJ2020284567-577](https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2020284567-577)
14. Flynn M.C., Pernes G., Lee M.K.S., et al. Monocytes, Macrophages, and Metabolic Disease in Atherosclerosis // *Front. Pharmacol.* 2019. Vol. 10. P. 666. doi: [10.3389/fphar.2019.00666](https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00666)
15. Yeh H.Y., Hung S.H., Chen S.C., et al. The Expression of Toll-Like Receptor 4 mRNA in PBMCs Is Upregulated in Smokers and Decreases Upon Smoking Cessation // *Front. Immunol.* 2021. Vol. 12. P. 667460. doi: [10.3389/fimmu.2021.667460](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.667460)
16. Demirjian L., Abboud R.T., Li H., et al. Acute effect of cigarette smoke on TNF-alpha release by macrophages mediated through the erk1/2 pathway // *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. Vol. 1762, No. 6. P. 592–597. doi: [10.1016/j.bbadis.2006.04.004](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.04.004)
17. Будневский А.В., Овсянников Е.С., Мальцева Ю.Н., и др. Особенности течения хронической обструктивной болезни легких на фоне метаболического синдрома // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2020. Т. 8, № 2. С. 164–171. doi: [10.23888/HMJ202082164-171](https://doi.org/10.23888/HMJ202082164-171)
18. Yao Y., Zhou J., Diao X., et al. Association between tumor necrosis factor- $\alpha$  and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis // *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2019. Vol. 13. P. 1753466619866096. doi: [10.1177/1753466619866096](https://doi.org/10.1177/1753466619866096)
19. Ma K., Huang F., Qiao R., et al. Pathogenesis of sarcopenia in chronic obstructive pulmonary disease // *Front Physiol.* 2022. Vol. 13. P. 850964. doi: [10.3389/fphys.2022.850964](https://doi.org/10.3389/fphys.2022.850964)
20. Zou Y., Chen X., Liu J., et al. Serum IL-1 $\beta$  and IL-17 levels in patients with COPD: associations with clinical parameters // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2017. Vol. 12. P. 1247–1254. doi: [10.2147/COPD.S131877](https://doi.org/10.2147/COPD.S131877)
21. Osei E.T., Brandsma C.-A., Timens W., et al. Current perspectives on the role of interleukin-1 signalling in the pathogenesis of asthma and COPD // *Eur. Respir. J.* 2020. Vol. 55, No. 2. P. 1900563. doi: [10.1183/13993003.00563-2019](https://doi.org/10.1183/13993003.00563-2019)
22. Colarusso C., Terlizzi M., Molino A., et al. Role of the inflammasome in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) // *Oncotarget.* 2017. Vol. 8, No. 47. P. 81813–81824. doi: [10.18632/oncotarget.17850](https://doi.org/10.18632/oncotarget.17850)
23. Демина Е.П., Мирошникова В.В., Шварцман А.Л. Роль ABC-транспортеров А1 И G1 — ключевых белков обратного транспорта холестерина — в развитии атеросклероза // Молекулярная биология. 2016. Т. 50, № 2. С. 223–230. doi: [10.7868/S002689841602004X](https://doi.org/10.7868/S002689841602004X)

## REFERENCES

1. Brassington K, Selemidis S, Bozinovski S, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and atherosclerosis: common mechanisms and novel therapeutics. *Clin Sci (Lond)*. 2022;136(6):405–23. doi: [10.1042/CS20210835](https://doi.org/10.1042/CS20210835)
2. Yang DC, Chen C-H. Cigarette Smoking-Mediated Macrophage Reprogramming: Mechanistic Insights and Therapeutic Implications. *J Nat Sci.* 2018;4(11):e539.
3. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, et al. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol.* 2000;164(12):6166–73. doi: [10.4049/jimmunol.164.12.6166](https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.12.6166)
4. Karimi K, Sarir H, Mortaz E, et al. Toll-like receptor-4 mediates cigarette smoke-induced cytokine production by human macrophages. *Respir Res.* 2006;7(1):66. doi: [10.1186/1465-9921-7-66](https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-66)
5. Churg A, Zhou S, Wang X, et al. The role of interleukin-1 $\beta$  in murine cigarette smoke-induced emphysema and small airway remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009;40(4):482–90. doi: [10.1165/rcmb.2008-00380C](https://doi.org/10.1165/rcmb.2008-00380C)
6. Petrescu F, Voican SC, Silosi I. Tumor necrosis factor- $\alpha$  serum levels in healthy smokers and nonsmokers. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2010;5:217–22. doi: [10.2147/copd.s8330](https://doi.org/10.2147/copd.s8330)
7. Hannan SE, Harris JO, Sheridan NP, et al. Cigarette smoke alters plasma membrane fluidity of rat alveolar macrophages. *Am Rev Respir Dis.* 1989;140(6):1668–73. doi: [10.1164/ajrccm/140.6.1668](https://doi.org/10.1164/ajrccm/140.6.1668)
8. Sonett J, Goldklang M, Sklepkiwicz P, et al. A critical role for ABC transporters in persistent lung inflammation in the development of emphysema after smoke exposure. *FASEB J.* 2018; 32(12):fj201701381. doi: [10.1096/fj.201701381](https://doi.org/10.1096/fj.201701381)
9. Song W, Wang W, Dou L.-Y., et al. The implication of cigarette smoking and cessation on macrophage cholesterol efflux in coronary artery disease patients. *J Lipid Res.* 2015;56(3):682–91. doi: [10.1194/jlr.P055491](https://doi.org/10.1194/jlr.P055491)
10. Kotlyarov S. Analysis of differentially expressed genes and signaling pathways involved in atherosclerosis and chronic obstructive pulmonary disease. *Biomol Concepts.* 2022;13(1):34–54. doi: [10.1515/bmc-2022-0001](https://doi.org/10.1515/bmc-2022-0001)
11. Stämpfli MR, Anderson GP. How cigarette smoke skews immune responses to promote infection, lung disease and cancer. *Nat Rev Immunol.* 2009;9(5):377–84. doi: [10.1038/nri2530](https://doi.org/10.1038/nri2530)
12. Lugg ST, Scott A, Parekh D, et al. Cigarette smoke exposure and alveolar macrophages: mechanisms for lung disease. *Thorax.* 2022;77(1):94–101. doi: [10.1136/thoraxjnl-2020-216296](https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-216296)
13. Shustova SA, Miroshkina TA. Protective mechanisms of lungs. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2020;28(4):567–77. (In Russ). doi: [10.23888/PAVLOVJ2020284567-577](https://doi.org/10.23888/PAVLOVJ2020284567-577)
14. Flynn MC, Pernes G, Lee MKS, et al. Monocytes, Macrophages, and Metabolic Disease in Atherosclerosis. *Front Pharmacol.* 2019;10:666. doi: [10.3389/fphar.2019.00666](https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00666)
15. Yeh HY, Hung SH, Chen SC, et al. The Expression of Toll-Like Receptor 4 mRNA in PBMCs Is Upregulated in Smokers and Decreases Upon Smoking Cessation. *Front Immunol.* 2021;12:667460. doi: [10.3389/fimmu.2021.667460](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.667460)
16. Demirjian L, Abboud RT, Li H, et al. Acute effect of cigarette smoke on TNF- $\alpha$  release by macrophages mediated through the erk1/2 pathway. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1762(6):592–7. doi: [10.1016/j.bbadis.2006.04.004](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2006.04.004)
17. Budnevsky AV, Ovsyannikov ES, Maltseva YuN, et al. Peculiarities of course of chronic obstructive pulmonary disease with underlying metabolic syndrome. *Nauka Molodykh*

(*Eruditio Juvenium*). 2020; 8(2):164–71. (In Russ). doi: [10.23888/HMJ202082164-171](https://doi.org/10.23888/HMJ202082164-171)

18. Yao Y, Zhou J, Diao X, et al. Association between tumor necrosis factor- $\alpha$  and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Ther Adv Respir Dis*. 2019; 13:1753466619866096. doi: [10.1177/1753466619866096](https://doi.org/10.1177/1753466619866096)

19. Ma K, Huang F, Qiao R, et al. Pathogenesis of sarcopenia in chronic obstructive pulmonary disease. *Front Physiol*. 2022;13:850964. doi: [10.3389/fphys.2022.850964](https://doi.org/10.3389/fphys.2022.850964)

20. Zou Y, Chen X, Liu J, et al. Serum IL-1 $\beta$  and IL-17 levels in patients with COPD: associations with clinical parameters. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017;12:1247–54. doi: [10.2147/COPD.S131877](https://doi.org/10.2147/COPD.S131877)

21. Osei ET, Brandsma C–A, Timens W, et al. Current perspectives on the role of interleukin-1 signalling in the pathogenesis of asthma and COPD. *Eur Respir J*. 2020;55(2):1900563. doi: [10.1183/13993003.00563-2019](https://doi.org/10.1183/13993003.00563-2019)

22. Colarusso C, Terlizzi M, Molino A, et al. Role of the inflammasome in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Oncotarget*. 2017;8(47):81813–24. doi: [10.18632/oncotarget.17850](https://doi.org/10.18632/oncotarget.17850)

23. Demina EP, Miroshnikova VV, Schwarzman AL. Role of the ABC transporters A1 and G1, key reverse cholesterol transport proteins, in atherosclerosis. *Mol Biol (Mosk)*. 2016;50(2):223–30. (In Russ). doi: [10.7868/S002689841602004X](https://doi.org/10.7868/S002689841602004X)

## ОБ АВТОРАХ

\***Котляров Станислав Николаевич**, к.м.н., доцент;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7083-2692>;  
eLibrary SPIN: 3341-9391; e-mail: SKMR1@yandex.ru

**Сучков Игорь Александрович**, д.м.н., профессор;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1292-5452>;  
eLibrary SPIN: 6473-8662; e-mail: suchkov\_med@mail.ru

**Урясьев Олег Михайлович**, д.м.н., профессор;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8693-4696>;  
eLibrary SPIN: 7903-4609; e-mail: uryasev08@ya.ru

**Якушева Елена Николаевна**, д.м.н., профессор;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6887-4888>;  
eLibrary SPIN: 2865-3080; e-mail: enya.rzn@yandex.ru

**Щулькин Алексей Владимирович**, д.м.н., доцент;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1688-0017>;  
eLibrary SPIN: 2754-1702; e-mail: alekseyshulkin@rambler.ru

**Котлярова Анна Анатольевна**, к.б.н.;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0676-7558>;  
eLibrary SPIN: 9353-0139; e-mail: kaa.rz@yandex.ru

## AUTHOR'S INFO

\***Stanislav N. Kotlyarov**, MD, Cand Sci. (Med.), Associate Professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7083-2692>;  
eLibrary SPIN: 3341-9391; e-mail: SKMR1@yandex.ru

**Igor' A. Suchkov**, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1292-5452>;  
eLibrary SPIN: 6473-8662; e-mail: suchkov\_med@mail.ru

**Oleg M. Uryas'yev**, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8693-4696>;  
eLibrary SPIN: 7903-4609; e-mail: uryasev08@ya.ru

**Elena N. Yakusheva**, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6887-4888>;  
eLibrary SPIN: 2865-3080; e-mail: enya.rzn@yandex.ru

**Aleksey V. Shchul'kin**, MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1688-0017>;  
eLibrary SPIN: 2754-1702; e-mail: alekseyshulkin@rambler.ru

**Anna A. Kotlyarova**, Cand Sci. (Biol.);  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0676-7558>;  
eLibrary SPIN: 9353-0139; e-mail: kaa.rz@yandex.ru

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author