

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.24-036.12-085.33:612.112.94

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-191-204>

Поступила в редакцию 14.09.2022

Received 14.09.2022

**А. Г. Кадушкин<sup>1</sup>, А. Д. Таганович<sup>1</sup>, Л. В. Мовчан<sup>2</sup>, М. М. Зафранская<sup>3</sup>, Т. В. Шман<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,  
д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь*

<sup>3</sup>*Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова  
Белорусского государственного университета, Минск, Республика Беларусь*

## **МИГРАЦИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ К ХЕМОКИНАМ RANTES И IP-10 ПОД ВЛИЯНИЕМ АЗИТРОМИЦИНА**

**Аннотация.** Характерный для хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) воспалительный процесс сопровождается миграцией Т-лимфоцитов из крови в дыхательные пути. Подавление хемотаксиса Т-клеток с помощью лекарственных средств может ослабить воспалительную реакцию у пациентов с ХОБЛ.

Целью настоящего исследования являлось определение способности комбинации азитромицина и глюкокортикоидов влиять на миграцию Т-клеток крови пациентов с ХОБЛ.

Процентное содержание Т-лимфоцитов, экспрессирующих хемокиновые рецепторы CCR5, CCR6, CCR7, CXCR3, CXCR4, CXCR6, анализировали методом проточной цитометрии в периферической крови 54 курящих пациентов с ХОБЛ, 21 курящего здорового человека и 20 здоровых некурящих лиц, а также в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) 7 курящих пациентов с ХОБЛ и 7 здоровых курильщиков. Дополнительно определяли миграцию Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов крови пациентов с ХОБЛ ( $n = 8$ ) к хемокинам RANTES (10 нМ) и IP-10 (10 нМ) при их инкубации с азитромицином (10 мкг/мл) и будесонидом (10 нМ).

Проведенные исследования показали повышение процентного содержания Т-лимфоцитов, экспрессирующих хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR5, в периферической крови курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с таковым у здоровых курильщиков и здоровых некурящих людей, а также в БАЛЖ курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с аналогичным показателем у здоровых курящих людей. В периферической крови и БАЛЖ показатели относительного количества Т-клеток, содержащих хемокиновые рецепторы CXCR4, CXCR6, CCR6 и CCR7, не различались у пациентов с ХОБЛ и здоровых людей. Будесонид подавлял только миграцию цитотоксических Т-лимфоцитов к RANTES. Азитромицин самостоятельно и в сочетании с будесонидом ингибировал миграцию Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов крови в направлении RANTES и IP-10. При этом способность азитромицина супрессировать миграцию Т-клеток в комбинации с будесонидом и без него превосходила эффективность одного будесонида.

Полученные данные свидетельствуют о значении рецепторов CXCR3 и CCR5 в привлечении Т-клеток в легкие пациентов с ХОБЛ и демонстрируют способность азитромицина ингибировать миграцию Т-лимфоцитов.

**Ключевые слова:** хемотаксис, азитромицин, Т-лимфоциты, CXCR3, CCR5, RANTES, IP-10

**Для цитирования:** Миграция Т-лимфоцитов крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких к хемокинам RANTES и IP-10 под влиянием азитромицина / А. Г. Кадушкин [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 3. – С. 191–204. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-191-204>

**Aliaksei G. Kadushkin<sup>1</sup>, Anatoli D. Tahanovich<sup>1</sup>, Lyudmila V. Movchan<sup>2</sup>,  
Marina M. Zafranskaya<sup>3</sup>, Tatsiana V. Shman<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,  
Borovliany, Minsk region, Republic of Belarus*

<sup>3</sup>*International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

## **IMPACT OF AZITHROMYCIN ON THE MIGRATION OF PERIPHERAL BLOOD T LYMPHOCYTES FROM PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE TO RANTES AND IP-10**

**Abstract.** The inflammatory process specific for chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is accompanied by T lymphocyte migration from peripheral blood to the respiratory tract. Suppression of T cell chemotaxis by drugs may attenuate the inflammatory response in patients with COPD.

The aim of this study was to determine the ability of azithromycin in combination with glucocorticoids to affect the migration of blood T cells in patients with COPD.

The percentage of T lymphocytes expressing chemokine receptors CCR5, CCR6, CCR7, CXCR3, CXCR4, CXCR6 was analyzed by flow cytometry in the peripheral blood of 54 smokers with COPD, 21 healthy smokers, and 20 healthy non-smokers, as well as in bronchoalveolar lavage (BAL) of 7 smokers with COPD and 7 healthy smokers. Additionally, we determined the effect of azithromycin (10 µg/ml) and budesonide (10 nM) on the migration of peripheral blood T helper cells and cytotoxic T lymphocytes from patients with COPD ( $n = 8$ ) to chemokines RANTES (10 nM) and IP-10 (10 nM).

The percentage of T lymphocytes expressing chemokine receptors CXCR3 and CCR5 increased in the peripheral blood of COPD smokers compared with healthy smokers and healthy non-smokers, as well as in the BAL of COPD smokers compared with healthy smokers. The proportion of T cells expressing chemokine receptors CXCR4, CXCR6, CCR6, and CCR7 did not differ in the peripheral blood and the BAL between COPD patients and healthy controls. Budesonide only inhibited the migration of cytotoxic T lymphocytes to RANTES. Azithromycin, alone and combined with budesonide, inhibited the migration of T helper cells and cytotoxic T lymphocytes to both RANTES and IP-10. Moreover, the inhibitory effect of azithromycin, in combination with budesonide and without it, on the T cell migration was significantly greater than the effect of budesonide alone.

Our results suggest a role for CXCR3 and CCR5 in T cell recruitment into the lungs of COPD patients and demonstrate the ability of azithromycin to inhibit T lymphocyte migration.

**Keywords:** chemotaxis, azithromycin, T lymphocytes, CXCR3, CCR5, RANTES, IP-10

**For citation:** Kadushkin A. G., Tahanovich A. D., Movchan L. V., Zafranskaya M. M., Shman T. V. Impact of azithromycin on the migration of peripheral blood T lymphocytes from patients with chronic obstructive pulmonary disease to RANTES and IP-10. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 3, pp. 191–204 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-191-204>

**Введение.** В настоящее время глобальная распространенность хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) среди людей в возрасте 30–79 лет составляет 10,3 %, что эквивалентно 391,9 млн человек [1]. При этом более половины всех случаев заболевания могут быть даже не диагностированы [2].

Характерный для ХОБЛ воспалительный процесс сопровождается увеличением количества Т-хелперов 1-го типа и цитотоксических Т-лимфоцитов, инфильтрирующих дыхательные пути [3]. Эти клетки способствуют развитию эмфиземы путем секреции гранзима В и перфоринов [4] и увеличивают интенсивность воспаления [5–7]. Показано, что около трети всех Т-лимфоцитов пациентов с ХОБЛ, расположенных в подслизистой основе бронхов, экспрессируют субъединицу р65 фактора транскрипции NF-κB [5], способного индуцировать транскрипцию провоспалительных цитокинов. У пациентов с 1–2-й степенью тяжести ХОБЛ в подслизистой основе бронхов также обнаружено повышение количества Т-клеток, экспрессирующих фосфорилированный (активный) фактор транскрипции STAT4, вовлеченный в индукцию синтеза интерферона γ, по сравнению с курящими и некурящими здоровыми людьми [6, 7]. Более того, у пациентов, страдающих ХОБЛ, продукция провоспалительных цитокинов Т-лимфоцитами легких, выделенными из бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) или биоптатов бронхов, оказалась выше, чем у здоровых курящих и некурящих людей [8, 9].

Полагают, что основными хемокиновыми рецепторами, вовлеченными в перемещение Т-лимфоцитов в легкие пациентов с ХОБЛ, являются CXCR3 и CCR5 [10, 11]. В числе прочего на это указывают данные об их повышенной экспрессии на поверхности Т-лимфоцитов крови пациентов с ХОБЛ по сравнению с курящими и некурящими здоровыми людьми [12]. Однако в литературе можно встретить и противоположное мнение, основанное на отсутствии изменений в экспрессии хемокиновых рецепторов CXCR3 и CCR5 на Т-лимфоцитах крови у пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курильщиками и здоровыми некурящими людьми [13, 14], что ставит под сомнение влияние этих изменений на развитие ХОБЛ.

Помимо CXCR3 и CCR5, на поверхности Т-лимфоцитов крови здоровых людей выявлены и другие хемокиновые рецепторы, в частности CXCR4, CXCR6, CCR6, CCR7 [15]. Однако изменения их количества на поверхности Т-клеток и их значение в развитии и прогрессировании ХОБЛ пока не установлены [10, 11].

К сожалению, до сих пор не существует специфического лечения ХОБЛ, а методы, направленные на предупреждение ограничения воздушного потока, являются по своей сути паллиативными [16]. Для лечения пациентов со стабильным течением заболевания и во время обострений ХОБЛ используются ингаляционные кортикостероиды, бронходилататоры, антибиотики и другие лекарственные средства, которые имеют ряд ограничений в использовании, связанных с риском развития побочных эффектов [17–19]. Более того, противовоспалительные препараты,

включая глюкокортикоиды, оказались малоэффективны в подавлении воспалительного процесса при ХОБЛ [20]. Вместе с тем недавно появились сведения о способности макролидного антибиотика азитромицина потенцировать противовоспалительные эффекты кортикостероидов путем снижения продукции провоспалительных медиаторов мононуклеарными клетками крови пациентов с ХОБЛ [21, 22].

Азитромицин самостоятельно проявляет иммуномодулирующие свойства посредством супрессии синтеза и секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов [22, 23], замедляя тем самым перемещение Т-лимфоцитов в легкие. Кроме того, он может также ингибировать фосфорилирование киназы Akt [24], вовлеченной в развитие устойчивости к глюкокортикоидам. Однако его способность влиять на миграцию Т-клеток крови пациентов с ХОБЛ, сопряженную с одновременным воздействием глюкокортикоидов, не известна.

Целью настоящего исследования являлось определение способности комбинации азитромицина и глюкокортикоидов влиять на миграцию Т-клеток крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких.

**Материалы и методы исследования.** *Характеристика пациентов.* В настоящей работе были обследованы 54 курящих пациента с ХОБЛ, 21 курящий здоровый человек и 20 здоровых некурящих лиц (см. таблицу), в периферической крови которых определено процентное содержание Т-лимфоцитов, экспрессирующих хемокиновые рецепторы. Дополнительно была установлена экспрессия хемокиновых рецепторов на поверхности Т-лимфоцитов, расположенных в БАЛЖ. С этой целью в исследование были включены 7 курящих пациентов с ХОБЛ и 7 здоровых курильщиков. Оценку миграции Т-лимфоцитов к хемокинам RANTES и IP-10 проводили, используя периферическую кровь 8 курящих пациентов с ХОБЛ.

#### Характеристика участников исследования

##### Characteristics of study participants

Показатель	Экспрессия хемокиновых рецепторов					Хемотаксис
	Периферическая кровь			БАЛЖ		
	Курящие пациенты с ХОБЛ	Курящие здоровые люди	Некурящие здоровые люди	Курящие пациенты с ХОБЛ	Курящие здоровые люди	Курящие пациенты с ХОБЛ
Общее кол-во	54	21	20	7	7	8
Пол, м/ж	44/10	17/4	16/4	5/2	5/2	6/2
Возраст, лет	64,0 (59,8–69,0)	62,0 (55,0–65,5)	61,0 (54,0–66,0)	61,0 (58,0–73,0)	62,0 (59,0–67,0)	61,5 (59,0–68,3)
Активные курильщики/ экс-курильщики	26/28	12/9	0/0	4/3	3/4	4/4
Индекс курящего человека, пачка/лет	35,0 (22,0–42,8)	32,0 (21,0–36,0)	0	37,0 (32,0–43,0)	30,0 (20,0–50,0)	39,0 (16,3–43,8)
ОФВ <sub>1</sub> , % от должного	44,0 (32,8–51,0)	102,0 (98,5–109,0)	101,5 (95,0–112,3)	51,0 (43,0–64,0)	102,0 (93,0–109,0)	53,5 (43,3–63,8)
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, %	57,0 (50,0–62,0)	82,0 (78,5–87,0)	84,0 (78,0–88,8)	53,0 (49,0–64,0)	82,0 (80,0–86,0)	59,0 (42,8–63,5)
Степень тяжести ХОБЛ (GOLD 1/2/3/4), кол-во пациентов	0/17/31/6	–	–	0/4/3/0	–	0/5/3/0

**Примечание.** Данные представлены в абсолютных значениях или в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й – 75-й процентиля). ОФВ<sub>1</sub> – объем форсированного выдоха за первую секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; GOLD – Глобальная инициатива по хронической обструктивной болезни легких. Приведенные в таблице значения ОФВ<sub>1</sub> и ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ для курящих пациентов с ХОБЛ получены после проведения бронходилатационной пробы.

Критериями включения пациентов в исследование являлись диагноз ХОБЛ, соответствующий критериям Глобальной инициативы по хронической обструктивной болезни легких (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, GOLD), возраст старше 40 лет; критериями исключения – наличие у пациентов с ХОБЛ других хронических заболеваний бронхолегочной системы,

аллергических и аутоиммунных заболеваний, злокачественных новообразований, декомпенсации сахарного диабета, нарушений свертывающей системы крови, ВИЧ-инфекции. Были также исключены из исследования пациенты, принимавшие системные глюкокортикоиды, перенесшие инфекционное заболевание или обострение ХОБЛ в течение 6 недель до начала исследования.

В контрольные группы вошли условно здоровые добровольцы с нормальным уровнем объема форсированного выдоха за первую секунду ( $ОФВ_1$ ) и нормальной величиной отношения  $ОФВ_1$  к форсированной жизненной емкости легких ( $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ ), не имевшие в анамнезе патологии бронхолегочной системы и других хронических заболеваний. Все здоровые курильщики, так же как и пациенты с ХОБЛ, имели индекс курящего человека  $>10$  пачка/лет.

Пациенты с ХОБЛ и здоровые доноры были подробно информированы о целях и задачах исследования. Перед обследованием и забором крови все испытуемые дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования было одобрено решением Комитета по биомедицинской этике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (протокол № 8 от 21.01.2019).

*Анализ экспрессии хемокиновых рецепторов на Т-лимфоцитах периферической крови.* Периферическую кровь у пациентов с ХОБЛ и здоровых людей забирали натощак в пробирку, содержащую К3 ЭДТА в качестве антикоагулянта. В ходе пробоподготовки образцов к 100 мкл крови добавляли моноклональные антитела к антигенам человека в одном из следующих сочетаний: (1) CXCR3 FITC / CCR5 PE / CD3 PE-DyLight 594 / CCR6 APC / CD45 APC-Cy7; (2) CXCR4 FITC / CCR7 PE / CD3 PE-DyLight 594 / CD45 APC-Cy7; (3) CXCR6 PE / CD3 PE-DyLight 594 / CD45 APC-Cy7 (Exbio, Прага, Чешская Республика; R&D Systems, Миннеаполис, Миннесота, США). Соответствующие изотипические антитела, конъюгированные с флуорохромами FITC (флуоресцеин изотиоцианат), PE (фикоэритрин) или APC (аллофикоцианин), использовали в качестве контролей. Образцы инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 20 мин. Лизис эритроцитов осуществляли безотмывочным способом путем добавления 1 мл раствора Versalyse (Beckman Coulter, Марсель, Франция). Фенотипирование клеток проводили на проточном цитометре Navios с использованием программного обеспечения Kaluza (Beckman Coulter, Бреа, Калифорния, США). Образцы оценивали методом пошагового гейтирования. Сначала выделяли популяцию лимфоцитов крови, затем определяли Т-лимфоциты ( $CD45^+CD3^+$  события). Далее анализировали экспрессию хемокиновых рецепторов на всей популяции Т-лимфоцитов.

*Оценка экспрессии хемокиновых рецепторов на Т-лимфоцитах БАЛЖ.* Бронхоскопию с аспирацией БАЛЖ выполняли гибким бронхоскопом (Olympus Optical Co Ltd, Япония) с соблюдением условий, описанных нами ранее [25]. БАЛЖ собирали в стерильные пластиковые контейнеры объемом 50 мл, помещали на лед и в течение 1 ч транспортировали в лабораторию для дальнейшего анализа. Слизь удаляли, используя фильтр с диаметром пор 100 мкм. В дальнейшем БАЛЖ дважды отмывали путем центрифугирования (400 g, 4 °C) в течение 10 мин, а осадок клеток ресуспендировали в культуральной среде RPMI 1640 (Gibco, Гранд Айленд, Нью-Йорк, США), содержащей 10 %-ную фетальную телячью сыворотку (ФТС, Capricorn Scientific, Эбсдорфер-грунд, Германия). Клетки подсчитывали и оценивали их жизнеспособность. Количество жизнеспособных клеток доводили до  $1 \cdot 10^6$ /мл в культуральной среде RPMI 1640.

К 400 мкл клеточной суспензии, помещенной в пробирки для проточной цитометрии, добавляли моноклональные антитела к поверхностным антигенам в различных сочетаниях ( $CD45$  APC-Cy7,  $CD3$  PE-DyLight 594, Exbio; CXCR3 FITC, CXCR4 FITC, CXCR6 PE, CCR5 PE, CCR6 APC, CCR7 PE, R&D systems), а также изотипические антитела. Далее пробирки инкубировали в темноте на льду в течение 45 мин. Эритроциты лизировали, используя раствор Versalyse. По истечении 15 мин клетки отмывали, добавляя фосфатный солевой буфер (ФСБ, Cell Wash, BD Biosciences, Польша), содержащий 1 % ФТС, и фиксировали при помощи 500 мкл 1 %-ного раствора параформальдегида в ФСБ. Анализ клеток проводили на проточном цитометре Navios.

*Выделение мононуклеарных клеток периферической крови.* Периферическую кровь пациентов с ХОБЛ помещали в пробирку, содержащую антикоагулянт гепарин натрия. Используя раствор Lymphopure (Biolegend, Сан Диего, Калифорния, США), мононуклеарные клетки выделяли из периферической крови путем центрифугирования (800 g, 20 мин, комнатная температура)

в градиенте плотности 1,077 г/мл. Собранные клетки отмывали и ресуспендировали в концентрации  $1 \cdot 10^6$ /мл в культуральной среде RPMI 1640, содержащей 1 % ФТС.

*Оценка миграции Т-клеток под влиянием лекарственных средств.* Суспензию мононуклеарных клеток периферической крови объемом 1 мл помещали в стерильные пробирки и инкубировали с антибиотиком азитромицином (10 мкг/мл), глюкокортикоидом будесонидом (10 нМ) (оба препарата произведены компанией Glentham Life Sciences Ltd, Коршам, Уилтшир, Великобритания) или их комбинацией при 37 °С в увлажненной 5 %  $\text{CO}_2$ /95 % воздушной среде. Спустя 1 ч 100 мкл суспензии клеток помещали в верхние камеры (лунки) 24-луночного планшета, имеющие поры диаметром 5 мкм (Costar Corning, Корнинг, Нью-Йорк, США). Нижние камеры планшета наполняли буфером объемом 600 мкл, состоящим из культуральной среды RPMI 1640, 1 % ФТС и хемокинов IP-10 (10 нМ, Gibco, Карлсбад, Калифорния, США) или RANTES (10 нМ, R&D systems). Буфер без хемокинов использовали в качестве контроля. Планшеты инкубировали при 37 °С, 5 %  $\text{CO}_2$ /95 % атмосферного воздуха в течение 2 ч. Клетки, мигрировавшие в нижнюю камеру, собирали и отмывали при помощи ФСБ. Пробирки центрифугировали (500 g, комнатная температура) в течение 5 мин, после чего клетки ресуспендировали в ФСБ. Добавляли моноклональные антитела, конъюгированные с флуорохромами (CD3-FITC / CD4-PerCP-Cy5.5 / CD8-APC / CD45-APC Alexa Fluor 750 (Beckman Coulter; Exbio; BD Biosciences, Сан-Диего, Калифорния, США). Клетки инкубировали 20 мин в темноте при 4 °С, отмывали при помощи 3 мл ФСБ, содержащего 0,2 %-ный бычий сывороточный альбумин (BD Biosciences) и фиксировали с использованием 300 мкл 1 %-ного раствора параформальдегида. После настройки проточного цитометра Navios на среднюю скорость потока клеток подсчитывали количество Т-хелперов ( $\text{CD45}^+\text{CD3}^+\text{CD4}^+$ ) и цитотоксических Т-лимфоцитов ( $\text{CD45}^+\text{CD3}^+\text{CD8}^+$ ) в течение 100 с.

*Статистическая обработка данных.* Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы GraphPad Prism, версия 7.00 (GraphPad Software, Сан-Диего, Калифорния, США). Для сравнения между собой трех независимых выборок (при оценке экспрессии хемокиновых рецепторов на Т-клетках в периферической крови) использовали непараметрический тест Краскела–Уоллиса. В последующем показатели сравнивали попарно на основе критерия Данна. Различия в показателях двух независимых групп (для оценки экспрессии хемокиновых рецепторов на Т-клетках в БАЛЖ) определяли по значению непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни. Результаты миграции Т-клеток анализировали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим апостериорным попарным сравнением показателей с помощью критерия Тьюки. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В настоящей работе у курящих пациентов с ХОБЛ выявлено повышение процентного содержания Т-лимфоцитов крови, снабженных хемокиновыми рецепторами CXCR3 и CCR5, по сравнению с курящими и некурящими здоровыми людьми (рис. 1, 2). При этом различия в относительном количестве этих субпопуляций Т-лимфоцитов у здоровых курильщиков и здоровых некурящих людей отсутствовали. Такие результаты исследования исключают влияние курения и свидетельствуют о роли ХОБЛ в количественных изменениях субпопуляций Т-лимфоцитов крови, экспрессирующих CXCR3 и CCR5. Ранее нами были получены результаты, согласно которым у некурящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с некурящими здоровыми людьми и у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курильщиками повышена экспрессия CXCR3 и CCR5 на Т-лимфоцитах крови [26]. Позднее в другом исследовании не обнаружено различий в процентном содержании  $\text{CD4}^+$  и  $\text{CD8}^+$  Т-лимфоцитов, несущих на своей поверхности рецепторы CXCR3 и CCR5, у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с курящими здоровыми и некурящими здоровыми людьми [13]. Однако авторы этой работы включили в группы сравнения лиц, которые были моложе пациентов с ХОБЛ, а экспрессия рецепторов CXCR3 и CCR5 на Т-лимфоцитах крови, как известно, может изменяться с возрастом [27, 28].

В настоящем исследовании нами оценена экспрессия рецепторов CXCR3 и CCR5 не только на Т-лимфоцитах крови, но и на Т-клетках, присутствующих в БАЛЖ (рис. 3). Относительное количество Т-лимфоцитов БАЛЖ, содержащих CXCR3 и CCR5, у курящих пациентов с ХОБЛ было выше, чем у курящих здоровых людей. Другие авторы выявили более высокую долю  $\text{CD8}^+$  Т-лимфоцитов мокроты, экспрессирующих CXCR3, у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению

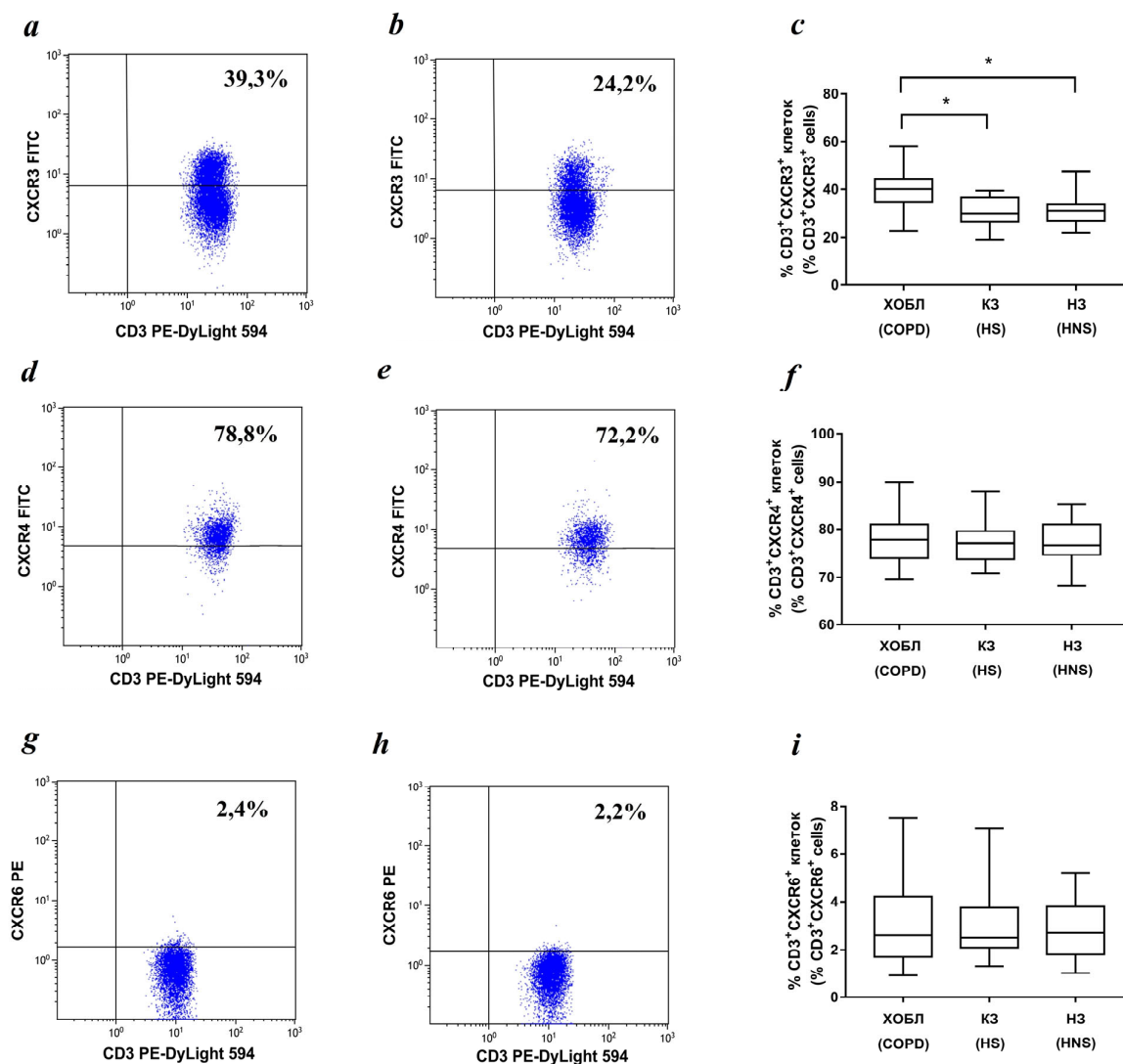


Рис. 1. Экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR3, CXCR4 и CXCR6 на поверхности Т-лимфоцитов периферической крови. Определение региона CXCR3<sup>+</sup>, CXCR4<sup>+</sup> и CXCR6<sup>+</sup> Т-лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии. Здесь и на рис. 2 показаны результаты фенотипирования, полученные при анализе Т-лимфоцитов периферической крови пациента с ХОБЛ (*a, d, g*) и здорового некурящего донора (*b, e, h*); на графиках *c, f, i* приведено процентное содержание Т-клеток, экспрессирующих хемокиновые рецепторы (относительно всех Т-лимфоцитов), в периферической крови обследованных лиц; диаграммы демонстрируют диапазон значений, медиану, 25-й и 75-й процентиля. ХОБЛ – пациенты с хронической обструктивной болезнью легких, КЗ – курящие здоровые люди, НЗ – некурящие здоровые люди;  
\* –  $p < 0,05$  по сравнению с соответствующей контрольной группой

Fig. 1. Expression of chemokine receptors CXCR3, CXCR4, and CXCR6 on the surface of peripheral blood T lymphocytes. The region of CXCR3<sup>+</sup>, CXCR4<sup>+</sup>, and CXCR6<sup>+</sup> T cells was determined by flow cytometry. Here and in Fig. 2, the phenotyping analysis of peripheral blood T lymphocyte subsets from a COPD patient (*a, d, g*) and a healthy non-smoking donor (*b, e, h*) is presented; graphs *c, f, i* show the percentage of T cells expressing chemokine receptors (as percentage of all T lymphocytes) in the peripheral blood of the examined subjects; plots demonstrate range, median, 25th and 75th percentiles. COPD – patients with chronic obstructive pulmonary disease; HS – healthy smokers; HNS – healthy non-smokers; \* –  $p < 0.05$  compared with the corresponding control group

со здоровыми курящими людьми [29]. Еще в одном исследовании было продемонстрировано повышение относительного количества Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы CXCR3 и CCR5, в БАЛЖ пациентов с ХОБЛ по сравнению с некурящими здоровыми людьми, при этом различия между пациентами с ХОБЛ и курящими здоровыми людьми отсутствовали [30]. Следует отметить, что в этой работе к пациентам с ХОБЛ относили лиц с показателем ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ, превышающим

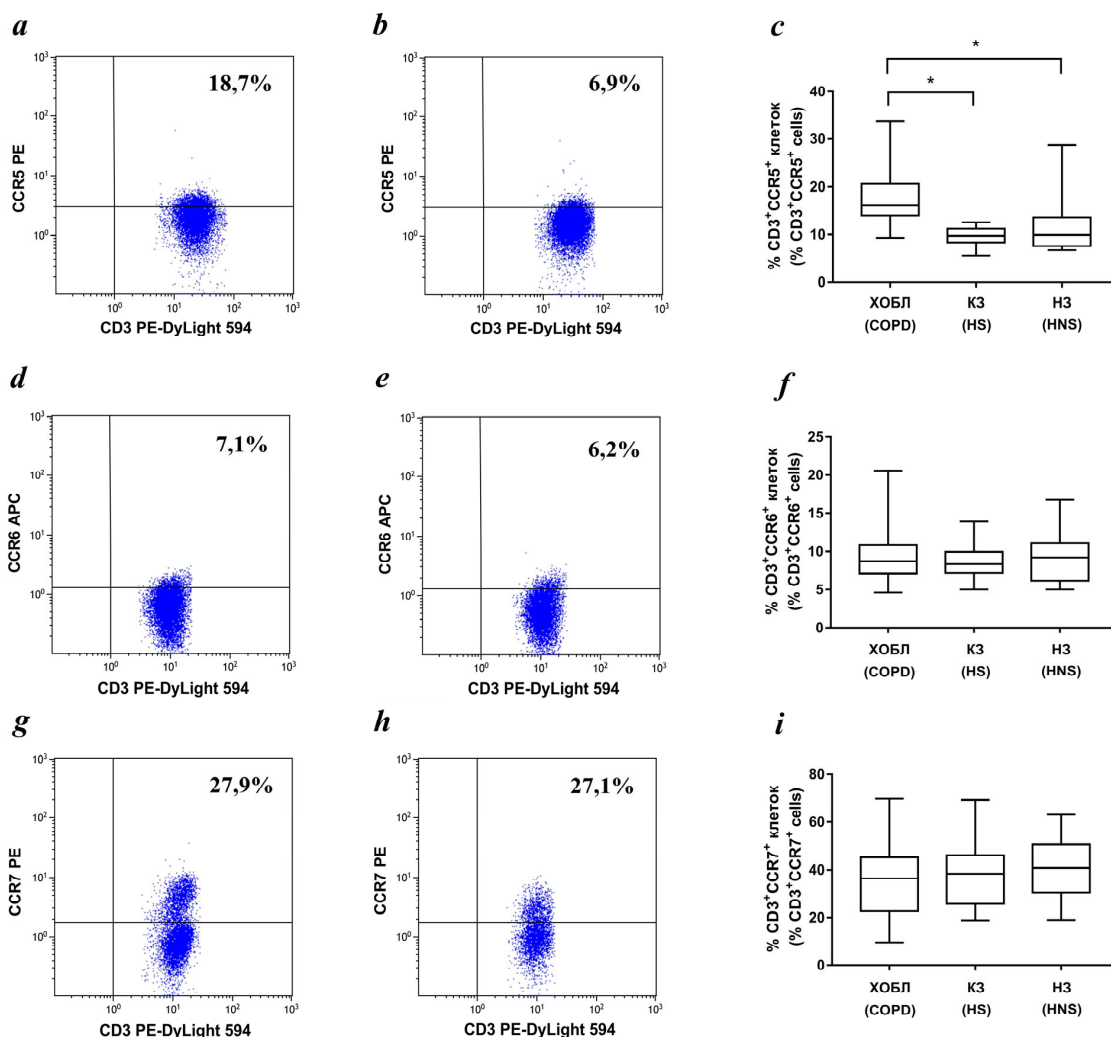


Рис. 2. Экспрессия хемокиновых рецепторов CCR5, CCR6 и CCR7 на поверхности Т-лимфоцитов периферической крови. Определение региона CCR5<sup>+</sup>, CCR6<sup>+</sup> и CCR7<sup>+</sup> Т-лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии

Fig. 2. Expression of chemokine receptors CCR5, CCR6, and CCR7 on the surface of peripheral blood T lymphocytes. The region of CCR5<sup>+</sup>, CCR6<sup>+</sup> and CCR7<sup>+</sup> T cells was determined by flow cytometry

70 %, хотя, согласно критериям GOLD, диагноз ХОБЛ выставляется лишь при значении ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ менее 70 % [31].

Миграция Т-лимфоцитов из крови в дыхательные пути осуществляется по градиенту концентрации хемокинов. При этом перемещение Т-клеток зависит не только от уровня экспрессии хемокиновых рецепторов, но и от их функционального состояния, концентрации хемокинов, эффективности взаимодействия рецептора и соответствующего лиганда, наличия факторов (ингибиторов, активаторов), препятствующих или способствующих лиганд-рецепторному связыванию [10, 11].

Для миграции Т-лимфоцитов, снабженных рецепторами CXCR3, требуется связь с хемокинами MIG (CXCL9), IP-10 (CXCL10), I-TAC (CXCL11), в то время как перемещение клеток, обладающих рецепторами CCR5, происходит при посредстве лигандов MIP-1 $\alpha$  (CCL3), MIP-1 $\beta$  (CCL4) и RANTES (CCL5) [10]. Сообщается о повышенной экспрессии IP-10 в эпителии нижних дыхательных путей и стенке легочных артерий курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курящими и некурящими людьми [32]. Экспрессия RANTES также была выше в подслизистой основе бронхов пациентов с ХОБЛ, имеющих 3–4-ю степень тяжести заболевания, чем у здоровых некурящих людей [33]. Немаловажно и то, что экспериментальные исследования подтвердили более активную миграцию мононуклеарных клеток периферической крови пациентов с ХОБЛ

к RANTES и IP-10 по сравнению с миграцией клеток здоровых курильщиков и здоровых некурящих людей [13]. Приведенные данные обосновывают патогенетическое значение лиганд-рецепторных пар CXCR3/IP-10 и CCR5/RANTES в перемещении Т-лимфоцитов из крови в дыхательные пути пациентов с ХОБЛ.

В дополнение к рецепторам CXCR3 и CCR5 в настоящей работе нами также проанализирована экспрессия хемокиновых рецепторов CXCR4, CXCR6, CCR6, CCR7 на поверхности Т-лимфоцитов крови и БАЛЖ. Однако как в крови, так и в БАЛЖ различий в процентном содержании Т-клеток, экспрессирующих эти рецепторы, между отдельными группами обследованных лиц не обнаружено. Тем не менее такие данные не исключают возможную роль этих рецепторов в миграции Т-клеток при ХОБЛ, поскольку в действительности Т-лимфоциты могут нести на своей

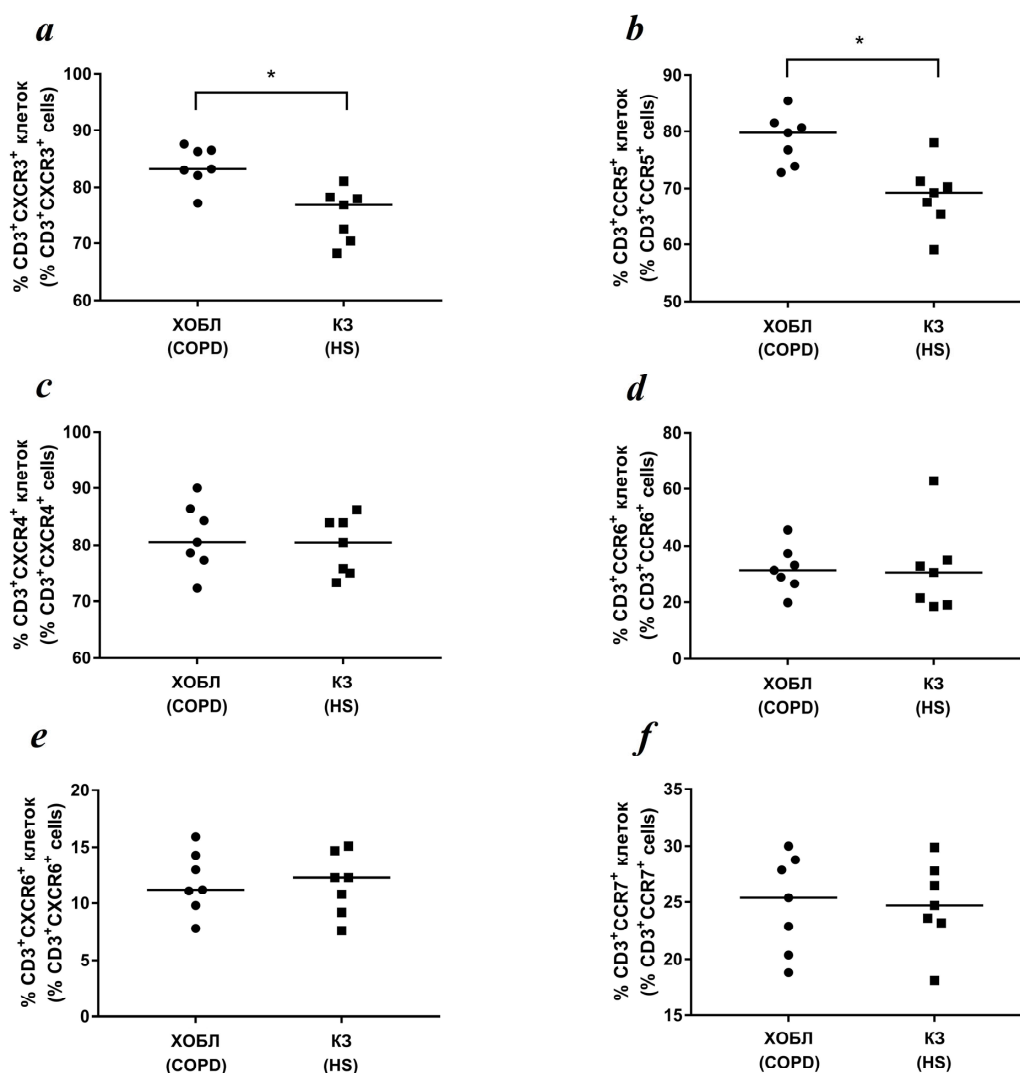


Рис. 3. Экспрессия хемокиновых рецепторов на поверхности Т-лимфоцитов бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). На графиках приведено процентное содержание Т-клеток (относительно всех Т-лимфоцитов), экспрессирующих хемокиновые рецепторы CXCR3 (a), CCR5 (b), CXCR4 (c), CCR6 (d), CXCR6 (e) и CCR7 (f) в БАЛЖ обследованных лиц. Отдельные точки соответствуют значениям, полученным для каждого обследованного человека; горизонтальная черта демонстрирует медиану; ХОБЛ – пациенты с хронической обструктивной болезнью легких, КЗ – курящие здоровые люди; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

Fig. 3. Expression of chemokine receptors on the surface of T lymphocytes from bronchoalveolar lavage (BAL). The graphs show the percentage of T cells (in relation to all T lymphocytes) expressing chemokine receptors CXCR3 (a), CCR5 (b), CXCR4 (c), CCR6 (d), CXCR6 (e), and CCR7 (f) in the BAL of the examined subjects. Individual points correspond to the values obtained in each subject; the horizontal bar shows the median; COPD – patients with chronic obstructive pulmonary disease; HS – healthy smokers; \* –  $p < 0.05$  compared with the control group



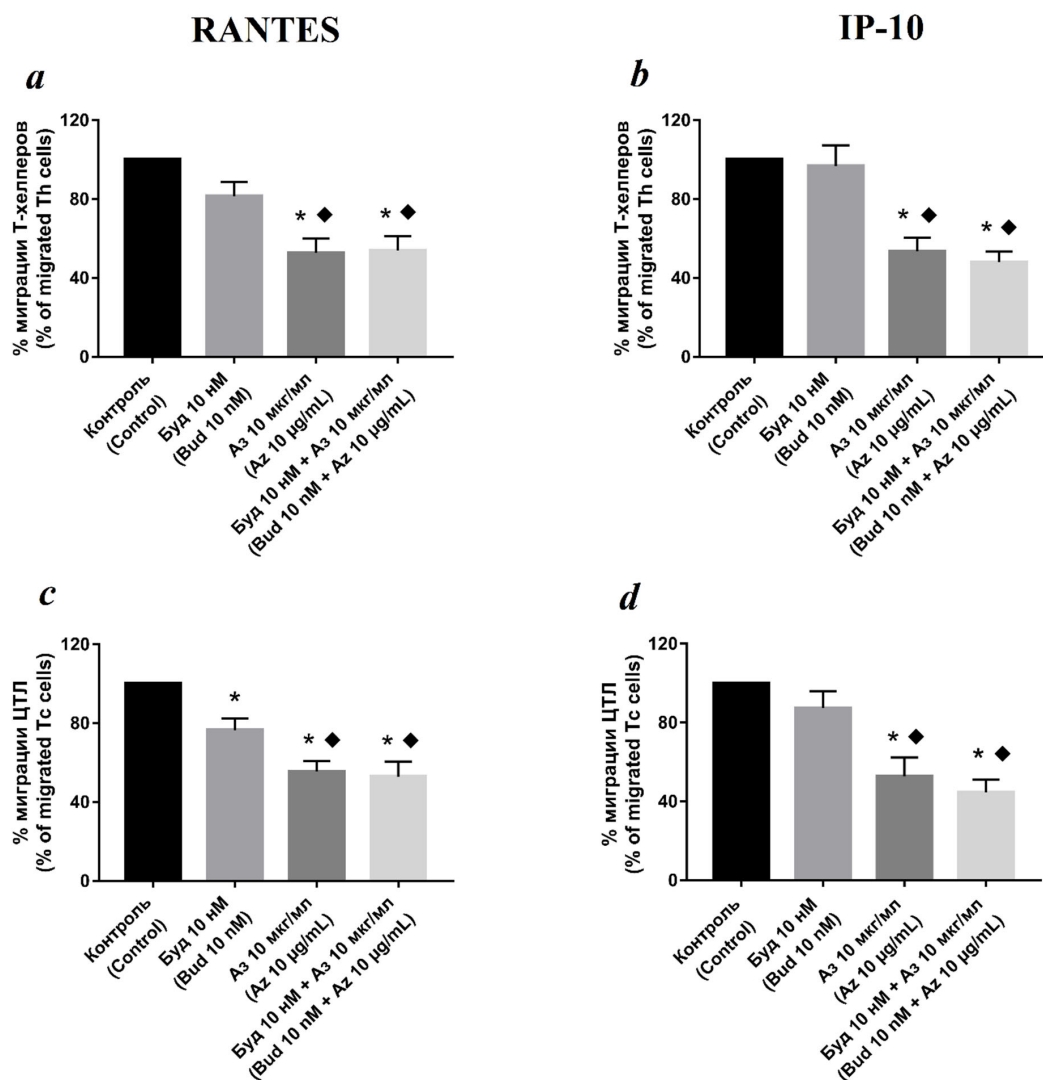


Рис. 4. Влияние азитромицина и будесонида на хемотаксис Т-лимфоцитов периферической крови пациентов с ХОБЛ в направлении RANTES и IP-10. На графиках показано влияние азитромицина (Аз, 10 мкг/мл), будесонида (Буд, 10 нМ) и их сочетания на миграцию Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), индуцированную 10 нМ RANTES (а, с) и 10 нМ IP-10 (b, d). Результаты представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $n = 8$ ); \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем (клетками крови, находившимися в присутствии хемокина, но в отсутствие лекарственных средств); ♦ –  $p < 0,05$  по сравнению с Буд 10 нМ

Fig. 4. Effect of azithromycin and budesonide on the chemotaxis of peripheral blood T lymphocytes from patients with COPD to RANTES and IP-10. Graphs show the effect of azithromycin (Az, 10 µg/ml), budesonide (Bud, 10 nM) and their combination on the migration of T helper cells (Th cells) and cytotoxic T lymphocytes (Tc cells) induced by 10 nM RANTES (a, c) and 10 nM IP-10 (b, d). Results are presented as a mean  $\pm$  standard error of the mean ( $n = 8$ ); \* –  $p < 0.05$  compared with control (blood cells in the presence of chemokine, but in the absence of drugs); ♦ –  $p < 0.05$  compared with Bud 10 nM

поверхности одновременно несколько типов хемокиновых рецепторов и перемещение клеток происходит при участии каждого из них. Возможно, именно по этой причине селективные ингибиторы хемокиновых рецепторов пока так и не нашли применения при лечении пациентов с ХОБЛ [11, 34].

На следующем этапе работы нами оценено влияние лекарственных средств на перемещение Т-лимфоцитов крови пациентов с ХОБЛ к хемокинам RANTES и IP-10. Глюкокортикоид будесонид подавлял только миграцию цитотоксических Т-лимфоцитов в направлении RANTES, но не влиял на перемещение Т-хелперов к обоим хемокинам и цитотоксических Т-лимфоцитов к IP-10 (рис. 4), что свидетельствует об ограниченной эффективности глюкокортикоидов в отношении

миграции Т-клеток. О низкой чувствительности Т-лимфоцитов пациентов с ХОБЛ к кортикостероидам ранее сообщали и другие авторы [35, 36]. Так, М. Кауг с соавт. показали резистентность Т-клеток дыхательных путей пациентов с ХОБЛ к продукции интерферона  $\gamma$  под влиянием глюкокортикоида дексаметазона [35]. Другая научная группа продемонстрировала повышение продукции провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли  $\alpha$  и интерферона  $\gamma$ ) CD8<sup>+</sup> Т-клетками периферической крови, БАЛЖ и бронхиальных смывов, выделенными от пациентов с ХОБЛ, независимо от приема ими ингаляционных кортикостероидов [36].

В настоящее время выявлен ряд препаратов, перспективных с точки зрения способности влиять на молекулярные пути развития стероидорезистентности при ХОБЛ. К ним можно отнести трициклический антидепрессант нортриптилин, метилксантин теофиллин, ингибитор фосфодиэстеразы 4 рофлумиласт, антиоксидантные препараты и макролидный антибиотик азитромицин [37]. Последний препарат привлек к себе особое внимание вследствие его способности снижать частоту обострений ХОБЛ при регулярном использовании пациентами в дозе 250 мг ежедневно или 500 мг 3 раза в неделю на протяжении 1 года [38, 39]. В настоящей работе азитромицин продемонстрировал лучший профиль супрессии миграции Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов, чем будесонид, превзойдя его по степени ингибирования. Добавление к клеточной суспензии обоих лекарственных средств приводило к подавлению миграции Т-клеток к RANTES и IP-10, сходному по силе действия с одним азитромицином.

Ранее нами показано, что комбинация азитромицина и будесонида по сравнению с одним азитромицином обладает одинаковой способностью подавлять секрецию мононуклеарными клетками крови интерлейкина 5 (ИЛ-5) и ИЛ-13. Вместе с тем сочетанное действие обоих лекарственных средств превосходило ингибирующую способность каждого из них по отдельности в отношении секреции ИЛ-4, ИЛ-8, тимического стромального лимфопоэтина [22]. С учетом данных, полученных в настоящей работе, такие результаты свидетельствуют в пользу избирательной способности азитромицина модулировать чувствительность клеток к кортикостероидам.

**Заключение.** Проведенные исследования позволили установить повышение процентного содержания Т-лимфоцитов, экспрессирующих хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR5, в периферической крови курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению со здоровыми курильщиками и здоровыми некурящими людьми. Относительное количество Т-клеток крови, содержащих хемокиновые рецепторы CXCR4, CXCR6, CCR6 и CCR7, не различалось между курящими пациентами с ХОБЛ, здоровыми курящими и некурящими людьми. Аналогичные результаты по отношению ко всем перечисленным хемокиновым рецепторам были получены и в БАЛЖ, при этом в качестве группы сравнения выступали лишь здоровые курильщики.

Будесонид подавлял миграцию цитотоксических Т-лимфоцитов крови к RANTES, но не влиял на перемещение этих клеток к IP-10 и Т-хелперов крови к RANTES и IP-10. Азитромицин самостоятельно и в сочетании с будесонидом ингибировал миграцию Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов крови в направлении RANTES и IP-10. При этом способность азитромицина супрессировать миграцию клеток в комбинации с будесонидом и без него превосходила эффективность одного будесонида.

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

**Благодарности.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (задание № 2.56).

**Acknowledgements.** The study was financially supported by the State Scientific Program “Fundamental and Applied Sciences for Medicine” (assignment no. 2.56).

### Список использованных источников

1. Global, regional, and national prevalence of, and risk factors for, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 2019: a systematic review and modelling analysis / D. Adeloye [et al.] // *Lancet. Respir. Med.* – 2022. – Vol. 10, N 5. – P. 447–458. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00511-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00511-7)
2. Underdiagnosis and overdiagnosis of chronic obstructive pulmonary disease / N. Diab [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2018. – Vol. 198, N 9. – P. 1130–1139. <https://doi.org/10.1164/rccm.201804-0621CI>
3. Brusselle, G. G. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease / G. G. Brusselle, G. F. Joos, K. R. Bracke // *Lancet.* – 2011. – Vol. 378, N 9795. – P. 1015–1026. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60988-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60988-4)

4. Perforin expression and cytotoxic activity of sputum CD8+ lymphocytes in patients with COPD / G. Chrysofakis [et al.] // *Chest*. – 2004. – Vol. 125, N 1. – P. 71–76. <https://doi.org/10.1378/chest.125.1.71>
5. Increased expression of nuclear factor-kappaB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD / A. Di Stefano [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2002. – Vol. 20, N 3. – P. 556–563. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00272002>
6. Cosio, M. G. Autoimmunity, T-cells and STAT-4 in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease / M. G. Cosio // *Eur. Respir. J.* – 2004. – Vol. 24. – P. 3–5. <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00043104>
7. STAT4 activation in smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease / A. Di Stefano [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2004. – Vol. 24. – P. 78–85. <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00080303>
8. Williams, M. The role of CD8+ T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review / M. Williams, I. Todd, L. C. Fairclough // *Inflamm. Res.* – 2021. – Vol. 70, N 1. – P. 11–18. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01408-z>
9. A novel technique to explore the functions of bronchial mucosal T cells in chronic obstructive pulmonary disease: application to cytotoxicity and cytokine immunoreactivity / M. W. Lethbridge [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2010. – Vol. 161, N 3. – P. 560–569. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2010.04198.x>
10. Chemokines in COPD: From implication to therapeutic use / P. Henrot [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, N 11. – Art. 2785. <https://doi.org/10.3390/ijms20112785>
11. Tomankova, T. Chemokine receptors and their therapeutic opportunities in diseased lung: far beyond leukocyte trafficking / T. Tomankova, E. Kriegova, M. Liu // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2015. – Vol. 308, N 7. – P. L603–L618. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00203.2014>
12. Modification of surface antigens in blood CD8+ T-lymphocytes in COPD: effects of smoking / A. Koch [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2007. – Vol. 29, N 1. – P. 42–50. <https://doi.org/10.1183/09031936.00133205>
13. Enhanced monocyte migration to CXCR3 and CCR5 chemokines in COPD / C. Costa [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2016. – Vol. 47, N 4. – P. 1093–1102. <https://doi.org/10.1183/13993003.01642-2015>
14. Sputum T lymphocytes in asthma, COPD and healthy subjects have the phenotype of activated intraepithelial T cells (CD69+ CD103+) / M. J. Leckie [et al.] // *Thorax*. – 2003. – Vol. 58, N 1. – P. 23–29. <https://doi.org/10.1136/thorax.58.1.23>
15. Hughes, C. E. A guide to chemokines and their receptors / C. E. Hughes, R. J. B. Nibbs // *FEBS J.* – 2018. – Vol. 285, N 16. – P. 2944–2971. <https://doi.org/10.1111/febs.14466>
16. Pathological mechanism and targeted drugs of COPD / P. Guo [et al.] // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2022. – Vol. 17. – P. 1565–1575. <https://doi.org/10.2147/COPD.S366126>
17. Inhaled corticosteroids in COPD: friend or foe? / A. Agusti [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2018. – Vol. 52, N 6. – Art. 1801219. <https://doi.org/10.1183/13993003.01219-2018>
18. Gupta, P. Potential adverse effects of bronchodilators in the treatment of airways obstruction in older people: recommendations for prescribing / P. Gupta, M. S. O'Mahony // *Drugs Aging*. – 2008. – Vol. 25, N 5. – P. 415–443. <https://doi.org/10.2165/00002512-200825050-00005>
19. Regional lung deflation with increased airway volume underlies the functional response to bronchodilators in chronic obstructive pulmonary disease / N. Tanabe [et al.] // *Physiol. Rep.* – 2019. – Vol. 7, N 24. – Art. e14330. <https://doi.org/10.14814/phy2.14330>
20. Leung, J. M. Inhaled corticosteroids in COPD: the final verdict is... / J. M. Leung, D. D. Sin // *Eur. Respir. J.* – 2018. – Vol. 52, N 6. – Art. 1801940. <https://doi.org/10.1183/13993003.01940-2018>
21. The effect of glucocorticoids in combination with azithromycin or theophylline on cytokine production by NK and NKT-like blood cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease / A. G. Kadushkin [et al.] // *Biochem. Moscow Suppl. Ser. B.* – 2021. – Vol. 15, N 4. – P. 337–344. <https://doi.org/10.1134/S1990750821040053>
22. Azithromycin modulates release of steroid-insensitive cytokines from peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease / A. Kadushkin [et al.] // *Adv. Respir. Med.* – 2022. – Vol. 90, N 1. – P. 17–27. <https://doi.org/10.5603/ARM.a2022.0002>
23. Immunomodulation by macrolides: therapeutic potential for critical care / T. D. Y. Reijnders [et al.] // *Lancet Respir. Med.* – 2020. – Vol. 8, N 6. – P. 619–630. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30080-1](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30080-1)
24. A novel macrolide/fluoroketolide, solithromycin (CEM-101), reverses corticosteroid insensitivity via phosphoinositide 3-kinase pathway inhibition / Y. Kobayashi [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 169, N 5. – P. 1024–1034. <https://doi.org/10.1111/bph.12187>
25. Популяционная перестройка В-лимфоцитов, экспрессирующих хемокиновые рецепторы, у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / А. Г. Кадушкин [и др.] // *Биомед. химия*. – 2022. – Т. 68, № 2. – С. 134–143.
26. Популяционная перестройка Т-лимфоцитов, содержащих хемокиновые рецепторы, у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / А. Г. Кадушкин [и др.] // *Пульмонология*. – 2013. – № 2. – С. 41–45.
27. The effect of aging and caloric restriction on murine CD8+ T cell chemokine receptor gene expression / R. Yung [et al.] // *Immun. Ageing*. – 2007. – Vol. 4. – Art. 8. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-4-8>
28. T cell chemokine receptor expression in aging / R. Mo [et al.] // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 170, N 2. – P. 895–904. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.2.895>
29. Enhanced effector function of cytotoxic cells in the induced sputum of COPD patients / R. A. Urbanowicz [et al.] // *Respir. Res.* – 2010. – Vol. 11, N 1. – Art. 76. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-11-76>
30. CD8 chemokine receptors in chronic obstructive pulmonary disease / L. J. Smyth [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – Vol. 154, N 1. – P. 56–63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03729.x>
31. Yawn, B. P. GOLD in practice: Chronic obstructive pulmonary disease treatment and management in the primary care setting / B. P. Yawn, M. L. Mintz, D. E. Doherty // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2021. – Vol. 16. – P. 289–299. <https://doi.org/10.2147/COPD.S222664>

32. Increased expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand CXCL10 in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease / M. Sietta [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 165, N 10. – P. 1404–1409. <https://doi.org/10.1164/rccm.2107139>
33. Association of increased CCL5 and CXCL7 chemokine expression with neutrophil activation in severe stable COPD / A. Di Stefano [et al.] // *Thorax.* – 2009. – Vol. 64, N 11. – P. 968–975. <https://doi.org/10.1136/thx.2009.113647>
34. Lakshmi, S. P. Emerging pharmaceutical therapies for COPD / S. P. Lakshmi, A. T. Reddy, R. C. Reddy // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2017. – Vol. 12. – P. 2141–2156. <https://doi.org/10.2147/COPD.S121416>
35. T lymphocyte insensitivity to corticosteroids in chronic obstructive pulmonary disease / M. Kaur [et al.] // *Respir. Res.* – 2012. – Vol. 13, N 1. – Art. 20. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-13-20>
36. Hodge, G. Steroid resistant CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> NKT-like pro-inflammatory cytotoxic cells in chronic obstructive pulmonary disease / G. Hodge, S. Hodge // *Front. Immunol.* – 2016. – Vol. 7. – Art. 617. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00617>
37. Кадушкин, А. Г. Молекулярные механизмы формирования стероидорезистентности у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / А. Г. Кадушкин, А. Д. Таганович // *Пульмонология.* – 2016. – Т. 26, № 6. – С. 736–747.
38. Azithromycin maintenance treatment in patients with frequent exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COLUMBUS): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial / S. Uzun [et al.] // *Lancet Respir. Med.* – 2014. – Vol. 2, N 5. – P. 361–368. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(14\)70019-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70019-0)
39. Azithromycin for prevention of exacerbations of COPD / R. K. Albert [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 365, N 8. – P. 689–698. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal104623>

## References

1. Adeloje D., Song P., Zhu Y., Campbell H., Sheikh A., Rudan I. Global Respiratory Health Unit. Global, regional, and national prevalence of, and risk factors for, chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in 2019: a systematic review and modelling analysis. *Lancet. Respiratory Medicine*, 2022, vol. 10, no. 5, pp. 447–458. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00511-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00511-7)
2. Diab N., Gershon A. S., Sin D. D., Tan W. C., Bourbeau J., Boulet L. P., Aaron S. D. Underdiagnosis and overdiagnosis of chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2018, vol. 198, no. 9, pp. 1130–1139. <https://doi.org/10.1164/rccm.201804-0621CI>
3. Brusselle G. G., Joos G. F., Bracke K. R. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*, 2011, vol. 378, no. 9795, pp. 1015–1026. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60988-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60988-4)
4. Chrysafakis G., Tzanakis N., Kyriakoy D., Tsoumakidou M., Tsiligianni I., Klimathianaki M., Siafakas N. M. Perforin expression and cytotoxic activity of sputum CD8<sup>+</sup> lymphocytes in patients with COPD. *Chest*, 2004, vol. 125, no. 1, pp. 71–76. <https://doi.org/10.1378/chest.125.1.71>
5. Di Stefano A., Caramori G., Oates T., Capelli A., Lusuardi M., Gnemmi I. [et al.]. Increased expression of nuclear factor-kappaB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *European Respiratory Journal*, 2002, vol. 20, no. 3, pp. 556–563. <https://doi.org/10.1183/09031936.02.00272002>
6. Cosio M. G. Autoimmunity, T-cells and STAT-4 in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, 2004, vol. 24, pp. 3–5. <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00043104>
7. Di Stefano A., Caramori G., Capelli A., Gnemmi I., Ricciardolo F. L., Oates T., Donner C. F., Chung K. F., Barnes P. J., Adcock I. M. STAT4 activation in smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, 2004, vol. 24, pp. 78–85. <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00080303>
8. Williams M., Todd I., Fairclough L. C. The role of CD8<sup>+</sup>T lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review. *Inflammation Research*, 2021, vol. 70, no. 1, pp. 11–18. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01408-z>
9. Lethbridge M. W., Kemeny D. M., Ratoff J. C., O'Connor B. J., Hawrylowicz C. M., Corrigan C. J. A novel technique to explore the functions of bronchial mucosal T cells in chronic obstructive pulmonary disease: application to cytotoxicity and cytokine immunoreactivity. *Clinical and Experimental Immunology*, 2010, vol. 161, no. 3, pp. 560–569. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2010.04198.x>
10. Henrot P., Prevel R., Berger P., Dupin I. Chemokines in COPD: From implication to therapeutic use. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, no. 11, art. 2785. <https://doi.org/10.3390/ijms20112785>
11. Tomankova T., Kriegova E., Liu M. Chemokine receptors and their therapeutic opportunities in diseased lung: far beyond leukocyte trafficking. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2015, vol. 308, no. 7, pp. L603–L618. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00203.2014>
12. Koch A., Gackowski M., Sturton G., Staib P., Schinköthe T., Klein E., Rubbert A., Bacon K., Wassermann K., Erdmann E. Modification of surface antigens in blood CD8<sup>+</sup> T-lymphocytes in COPD: effects of smoking. *European Respiratory Journal*, 2007, vol. 29, no. 1, pp. 42–50. <https://doi.org/10.1183/09031936.00133205>
13. Costa C., Traves S. L., Tudhope S. J., Fenwick P. S., Belchamber K. B., Russell R. E., Barnes P. J., Donnelly L. E. Enhanced monocyte migration to CXCR3 and CCR5 chemokines in COPD. *European Respiratory Journal*, 2016, vol. 47, no. 4, pp. 1093–1102. <https://doi.org/10.1183/13993003.01642-2015>
14. Leckie M. J., Jenkins G. R., Khan J., Smith S. J., Walker C., Barnes P. J., Hansel T. T. Sputum T lymphocytes in asthma, COPD and healthy subjects have the phenotype of activated intraepithelial T cells (CD69<sup>+</sup> CD103<sup>+</sup>). *Thorax*, 2003, vol. 58, no. 1, pp. 23–29. <https://doi.org/10.1136/thorax.58.1.23>
15. Hughes C. E., Nibbs R. J. B. A guide to chemokines and their receptors. *FEBS Journal*, 2018, vol. 285, no. 16, pp. 2944–2971. <https://doi.org/10.1111/febs.14466>

16. Guo P., Li R., Piao T. H., Wang C. L., Wu X. L., Cai H. Y. Pathological mechanism and targeted drugs of COPD. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2022, vol. 17, pp. 1565–1575. <https://doi.org/10.2147/COPD.S366126>
17. Agusti A., Fabbri L. M., Singh D., Vestbo J., Celli B., Franssen F. M. E., Rabe K. F., Papi A. Inhaled corticosteroids in COPD: friend or foe? *European Respiratory Journal*, 2018, vol. 52, no. 6, art. 1801219. <https://doi.org/10.1183/13993003.01219-2018>
18. Gupta P., O'Mahony M. S. Potential adverse effects of bronchodilators in the treatment of airways obstruction in older people: recommendations for prescribing. *Drugs and Aging*, 2008, vol. 25, no. 5, pp. 415–443. <https://doi.org/10.2165/00002512-200825050-00005>
19. Tanabe N., Sato S., Muro S., Shima H., Oguma T., Tanimura K., Sato A., Hirai T. Regional lung deflation with increased airway volume underlies the functional response to bronchodilators in chronic obstructive pulmonary disease. *Physiological Reports*, 2019, vol. 7, no. 24, art. e14330. <https://doi.org/10.14814/phy2.14330>
20. Leung J. M., Sin D. D. Inhaled corticosteroids in COPD: the final verdict is... *European Respiratory Journal*, 2018, vol. 52, no. 6, art. 1801940. <https://doi.org/10.1183/13993003.01940-2018>
21. Kadushkin A. G., Tahanovich A. D., Movchan L. V., Kolesnikova T. S., Khadasouskaya A. V., Shman T. V. The effect of glucocorticoids in combination with azithromycin or theophylline on cytokine production by NK and NKT-like blood cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2021, vol. 15, pp. 337–344. <https://doi.org/10.1134/S1990750821040053>
22. Kadushkin A., Tahanovich A., Movchan L., Talabayeva E., Plastinina A., Shman T. Azithromycin modulates release of steroid-insensitive cytokines from peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Advances in Respiratory Medicine*, 2022, vol. 90, no. 1, pp. 17–27. <https://doi.org/10.5603/ARM.a2022.0002>
23. Reijnders T. D. Y., Saris A., Schultz M. J., van der Poll T. Immunomodulation by macrolides: therapeutic potential for critical care. *Lancet. Respiratory Medicine*, 2020, vol. 8, no. 6, pp. 619–630. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30080-1](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30080-1)
24. Kobayashi Y., Wada H., Rossios C., Takagi D., Charron C., Barnes P. J., Ito K. A novel macrolide/fluoroketolide, solithromycin (CEM-101), reverses corticosteroid insensitivity via phosphoinositide 3-kinase pathway inhibition. *British Journal of Pharmacology*, 2013, vol. 169, no. 5, pp. 1024–1034. <https://doi.org/10.1111/bph.12187>
25. Kadushkin A. G., Tahanovich A. D., Movchan L. V., Zafranskaya M. M., Dziadzichkina V. V., Shman T. V. Population rearrangement of B-lymphocytes expressing chemokine receptors in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, 2022, vol. 16, pp. 216–224 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S1990750822030064>
26. Kadushkin A. G., Shman T. V., Belevtsev M. V., Ibragimova Z. A., Taganovich A. D. Changes in T-lymphocyte population containing chemokine receptors in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonologiya = Pulmonologiya*, 2013, vol. 2, pp. 41–45 (in Russian).
27. Yung R., Mo R., Grolleau-Julius A., Hoeltzel M. The effect of aging and caloric restriction on murine CD8<sup>+</sup> T cell chemokine receptor gene expression. *Immunity and Ageing*, 2007, vol. 4, art. 8. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-4-8>
28. Mo R., Chen J., Han Y., Bueno-Cannizares C., Misek D. E., Lescure P. A., Hanash S., Yung R. L. T cell chemokine receptor expression in aging. *Journal of Immunology*, 2003, vol. 170, no. 2, pp. 895–904. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.2.895>
29. Urbanowicz R. A., Lamb J. R., Todd I., Corne J. M., Fairclough L. C. Enhanced effector function of cytotoxic cells in the induced sputum of COPD patients. *Respiratory Research*, 2010, vol. 11, no. 1, art. 76. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-11-76>
30. Smyth L. J., Starkey C., Gordon F. S., Vestbo J., Singh D. CD8 chemokine receptors in chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical and Experimental Immunology*, 2008, vol. 154, no. 1, pp. 56–63. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03729.x>
31. Yawn B. P., Mintz M. L., Doherty D. E. GOLD in practice: Chronic obstructive pulmonary disease treatment and management in the primary care setting. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2021, vol. 16, pp. 289–299. <https://doi.org/10.2147/COPD.S222664>
32. Saetta M., Mariani M., Panina-Bordignon P., Turato G., Buonsanti C., Baraldo S. [et al.]. Increased expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand CXCL10 in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2002, vol. 165, no. 10, pp. 1404–1409. <https://doi.org/10.1164/rccm.2107139>
33. Di Stefano A., Caramori G., Gnemmi I., Contoli M., Bristot L., Capelli A. [et al.]. Association of increased CCL5 and CXCL7 chemokine expression with neutrophil activation in severe stable COPD. *Thorax*, 2009, vol. 64, no. 11, pp. 968–975. <https://doi.org/10.1136/thx.2009.113647>
34. Lakshmi S. P., Reddy A. T., Reddy R. C. Emerging pharmaceutical therapies for COPD. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2017, vol. 12, pp. 2141–2156. <https://doi.org/10.2147/COPD.S121416>
35. Kaur M., Smyth L. J., Cadden P., Grundy S., Ray D., Plumb J., Singh D. T lymphocyte insensitivity to corticosteroids in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Research*, 2012, vol. 13, no. 1, art. 20. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-13-20>
36. Hodge G., Hodge S. Steroid Resistant CD8<sup>+</sup>CD28<sup>null</sup> NKT-like pro-inflammatory cytotoxic cells in chronic obstructive pulmonary disease. *Frontiers in Immunology*, 2016, vol. 7, art. 617. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00617>
37. Kadushkin A. G., Taganovich A. D. Molecular mechanisms of corticosteroid resistance in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pulmonologiya = Pulmonologiya*, 2016, vol. 26, no. 6, pp. 736–747 (in Russian).
38. Uzun S., Djamin R. S., Kluytmans J. A., Mulder P. G., van't Veer N. E., Ermens A. A., Pelle A. J., Hoogsteden H. C., Aerts J. G., van der Eerden M. M. Azithromycin maintenance treatment in patients with frequent exacerbations of chronic

obstructive pulmonary disease (COLUMBUS): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet. Respiratory Medicine*, 2014, vol. 2, no. 5, pp. 361–368. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(14\)70019-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70019-0)

39. Albert R. K., Connett J., Bailey W. C., Casaburi R., Cooper J. A. Jr, Criner G. J. [et al.]. COPD Clinical Research Network. Azithromycin for prevention of exacerbations of COPD. *New England Journal of Medicine*, 2011, vol. 365, no. 8, pp. 689–698. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1104623>

### Информация об авторах

*Кадушкин Алексей Геннадьевич* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-1620-8477>. E-mail: [kadushkyn@gmail.com](mailto:kadushkyn@gmail.com)

*Таганович Анатолий Дмитриевич* – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-0668-2888>. E-mail: [taganovich@bsmu.by](mailto:taganovich@bsmu.by)

*Мовчан Людмила Викторовна* – канд. биол. наук, врач лабораторной диагностики. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-0441-0109>. E-mail: [movchan-l@mail.ru](mailto:movchan-l@mail.ru)

*Зафранская Марина Михайловна* – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета (ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-8739-8300>. E-mail: [zafranskaya@gmail.com](mailto:zafranskaya@gmail.com)

*Шман Татьяна Викторовна* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-8669-8005>. E-mail: [shman@oncology.by](mailto:shman@oncology.by)

### Information about the authors

*Aliaksei G. Kadushkin* – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-1620-8477>. E-mail: [kadushkyn@gmail.com](mailto:kadushkyn@gmail.com)

*Anatoli D. Tahanovich* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-0668-2888>. E-mail: [taganovich@bsmu.by](mailto:taganovich@bsmu.by)

*Lyudmila V. Movchan* – Ph. D. (Biol.), Doctor of Laboratory Diagnostics. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovliany, Minsk region, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-0441-0109>. E-mail: [movchan-l@mail.ru](mailto:movchan-l@mail.ru)

*Marina M. Zafranskaya* – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University (23/1, Dolgobrodskaya Str., 220070, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-8739-8300>. E-mail: [zafranskaya@gmail.com](mailto:zafranskaya@gmail.com)

*Tatsiana V. Shman* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, Borovliany, Minsk region, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-8669-8005>. E-mail: [shman@oncology.by](mailto:shman@oncology.by)