

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ПНЕВМОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ДЛИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДИОКСИДА АЗОТА

Преображенская Т.Н.¹, Лебедева Е.С.²

¹ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Министерства обороны Российской Федерации, кафедра военной токсикологии и медицинской защиты; 194044, г.

Санкт-Петербург

²ФГБВОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации;

197022, г. Санкт-Петербург

Резюме. Эпидемиологическими исследованиями последних лет доказано существование взаимосвязи между длительным воздействием газообразных поллютантов, заболеваемостью и смертностью от различных причин. *Цель* работы состояла в оценке влияния длительного воздействия диоксида азота на иммунологический профиль бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс. *Материалы и методы.* Животные в течение 30, 60 и 90 дней подвергались воздействию диоксида азота (30-40 мг/м³) в режиме: 6 дней в неделю три раза в день по 30 мин с получасовым интервалом между экспозициями. Определяли клеточный состав и иммунологический профиль бронхоальвеолярной лаважной жидкости. *Результаты исследования.* Повреждающий эффект длительного воздействия вдыхаемого диоксида азота на легкие сопровождался активацией популяции иммунокомпетентных клеток бронхоальвеолярного пространства, прежде всего альвеолярных макрофагов, а также нейтрофилов и тучных клеток. По мере увеличения продолжительности экспозиции диоксидом азота иммунологический профиль бронхоальвеолярной лаважной жидкости характеризовался нарастанием содержания провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-8, IL-17), что способствовало персистированию бронхолегочного воспаления, ферментов, обладающих протеазной деструктивной активностью (нейтрофильная эластаза, MMP-12, химаза тучных клеток) и профибротического фактора TGF- β . Происходящая на этом фоне структурная перестройка легочной ткани (денудация и плоскоклеточная метаплазия реснитчатого эпителия бронхов, гиперплазия и гиперсекреция бокаловидных клеток, эмфизема и очаговый фиброз) может служить морфологическим субстратом для формирования бронхиальной обструкции, сопутствующей таким заболеваниям как хроническая обструктивная болезнь легких и бронхиальная астма.

Ключевые слова: диоксид азота; иммунологический профиль; бронхоальвеолярная лаважная жидкость; медиаторы воспаления; протеазы

**IMMUNOPATHOGENESIS OF THE PNEUMOTACTIC EFFECT OF
PROLONGED EXPOSURE TO NITROGEN DIOXIDE**

Preobrazhenskaya T.N.¹, Lebedeva E.S.²

¹*S. M. Kirov Military Medical Academy*

²*Pavlov First Saint Petersburg State Medical University*

Summary. Epidemiological studies of recent years have proved the existence of a relationship between prolonged exposure to gaseous pollutants, morbidity and mortality from various causes. The aim of the work was to assess the effect of prolonged exposure to nitrogen dioxide on the bronchoalveolar lavage fluid immunological profile in rats. The animals were exposed to nitrogen dioxide (30-40 mg/m³) for 30, 60 and 90 days in the mode: 6 days a week, three times a day for 30 minutes with a half-hour interval between exposures. The cellular composition and immunological profile of bronchoalveolar lavage fluid were determined. The damaging effect of prolonged exposure to inhaled nitrogen dioxide on the lungs was accompanied by activation of the bronchoalveolar space population of immunocompetent cells, primarily alveolar macrophages, as well as neutrophils and mast cells. With increasing duration of exposure to nitrogen dioxide immunological profile of bronchoalveolar lavage fluid was characterized by an increase in the content of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-8, IL-17), which contributed to the persistence of respiratory inflammation, enzymes with protease destructive activity (neutrophil elastase, MMP-12, mast cell chymase) and profibrotic factor TGF- β . The structural restructuring of the lung tissue (denudation and squamous metaplasia of the ciliated bronchial epithelium, hyperplasia and hypersecretion of goblet cells, emphysema and focal fibrosis) can serve as a morphological substrate for the formation of bronchial obstruction, concomitant with diseases such as chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma.

Key words: nitrogen dioxide; immunological profile; bronchoalveolar lavage fluid; inflammatory mediators; proteases

Введение. Эпидемиологические проспективные когортные исследования последних лет доказали существование взаимосвязи между длительным воздействием даже очень низких концентраций газообразных загрязнителей воздуха, заболеваемостью и смертностью от естественных и специфических причин [1, 2, 3]. Появляется все больше сообщений о связи заболеваемости респираторными заболеваниями, прежде всего хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой, с цитотоксическими эффектами диоксида азота, содержащегося во вдыхаемом воздухе [1, 3, 4, 5]. Представлены эпидемиологические доказательства того, что хроническое

воздействие диоксида азота связано с более высоким риском смертности от множества причин независимо от присутствия других распространенных загрязнителей воздуха [6] и без установления порогового значения [3]. Под влиянием вдыхаемого диоксида азота увеличивается риск обострений и прогрессирования идиопатического легочного фиброза [7, 8]. Предшествующий заражению вирусом SARS-CoV-2 ингаляционный контакт с диоксидом азота повышал восприимчивость к инфекции и был независимым предиктором тяжелого течения SARS-CoV-2-пневмонии, опосредованного негативными иммунными реакциями, и высокого риска смертности [9, 10]. Хроническое воздействие токсичных оксидантных поллютантов способствует формированию иммунной дисфункции и иммунологическому старению, ассоциированному с секреторным провоспалительным фенотипом [11].

Цель исследования: оценить влияние длительного воздействия диоксида азота на иммунологический профиль бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс.

Материалы и методы. Объектом исследования служили крысы-самцы Вистар ($n = 36$) массой 160-180 г разводки питомника лабораторных животных «Рапполово» РАН. Исследования проводились в соответствии с регламентом, установленным приказом МЗСР РФ № 708н от 23.08.10 «Правила лабораторной практики» и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Крысы содержались в помещении, которое соответствовало гигиеническим требованиям, предъявляемым к условиям содержания данного вида лабораторных животных, получали стандартный сбалансированный рацион и воду без ограничений.

Ингаляционные затравки животных диоксидом азота проводились в камере, размещенной в вытяжном шкафу, которая соединялась шлангом с лабораторной установкой для получения диоксида азота. В результате химической реакции нитрита натрия с серной кислотой образовывалась смесь оксидов азота, которая по отводной трубке нагнеталась в камеру с животными. Под влиянием кислорода воздуха бесцветный оксид азота переходил в наиболее стабильный желто-бурый диоксид (NO_2). Через специальное отверстие в начале и в конце экспозиции из камеры забирались пробы воздуха для контроля концентрации диоксида азота, которая определялась колориметрическим методом и составляла 30-40 мг/м³ (15,7-20,9 ppm). На протяжении 30 ($n = 9$), 60 ($n = 9$) и 90 ($n = 9$) дней животные подвергались воздействию диоксида азота в режиме: 6 дней в неделю три раза в день по 30 мин с получасовым интервалом между экспозициями. Параметры экспозиции не вызывали острых токсических повреждений легких и обеспечивали 100 % выживаемость животных [12]. Контрольную группу

составили 11 интактных особей. Эвтаназию осуществляли методом цервикальной дислокации.

На изолированных легких выполняли бронхоальвеолярный лаваж стерильным физиологическим раствором (35-37 °C). Лаважную жидкость собирали в силиконизированные пробирки и после центрифугирования определяли общее и дифференциальное содержание клеток в 1,0 мл. В пробах бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) определяли содержание фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), трансформирующего фактора фиброза бета (TGF- β), интерлейкина-8 (IL-8), интерлейкина-17 (IL-17), нейтрофильной эластазы (NE), матриксной металлопротеиназы 12 (MMP-12) и химазы тучных клеток методом иммуноферментного анализа ELISA с использованием видоспецифичных тест-систем фирмы Cusabio Biotech (Китай). Для гистологических исследований легкие расправляли введением через трахею 10 % раствора формальдегида. Материал заключали в парафин, срезы толщиной 5-7 мкм красили гематоксилином-эозином и по ван-Гизону. Статистическую обработку выполняли с помощью пакета программ Statistica 6.0 (Windows) с применением критерия достоверности Стьюдента. Количественные данные представляли как среднее $\pm$ ошибка среднего ($M \pm m$). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Диоксид азота, содержащийся во вдыхаемом воздухе, проникает до периферических отделов респираторного тракта и индуцирует нейтрофильно-лимфоцитарное воспаление, обусловленное повреждением легочного эпителия и стимуляцией иммунокомпетентных клеток, населяющих просвет дыхательных путей, с последующей индукцией секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов, под влиянием которых происходит рекрутирование клеток воспаления в бронхоальвеолярное пространство [13, 14]. Ранее было показано, что уже после 15 дней воздействия диоксида азота в режиме, представленном в методике, в легочной ткани обнаруживаются характерные признаки повреждения (пласты десквамированного эпителия с обнажением базальной мембраны) и воспаления (гиперплазия бокаловидных клеток, лейкоцитарная инфильтрация интерстиция и межальвеолярных перегородок, набухание альвеолярного эпителия и скопления альвеолярных макрофагов в просвете альвеол [15].

Альвеолярные макрофаги являются наиболее распространенными врожденными иммунными клетками в дистальной паренхиме легких, расположенными на поверхности бронхоальвеолярного эпителия, и первыми сталкиваются с вдыхаемыми агрессивными агентами, инициируя иммунный ответ посредством продукции медиаторов воспаления (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 и др.) [16, 17, 18]. Как следует из таблицы 1, увеличение

продолжительности воздействия диоксида азота от 30 до 90 дней сопровождалось постепенным нарастанием концентраций TNF- α и IL-8 в пробах БАЛЖ. К 90 дню концентрации TNF- α и IL-8 в три и два раза соответственно превышали показатели интактной группы. Возросшая продукция IL-8, обладающего выраженной хемоаттрактантной активностью в отношении нейтрофилов, может быть одной из причин притока нейтрофилов в альвеолярное пространство. Содержание нейтрофилов в пробах БАЛЖ нарастало по мере увеличения продолжительности воздействия диоксида азота (табл. 2). Особенно значительный прирост нейтрофилов отмечался после 90-дневной экспозиции, когда их процентное содержание сравнивалось с альвеолярными макрофагами, составлявшими до этого основную часть клеточной популяции БАЛЖ (табл. 2). В привлечении нейтрофилов в дыхательные пути может участвовать опосредованный IL-17 цитокиновый сигналинг, регулирующий врожденный иммунный ответ легочных эпителиоцитов [19]. Концентрация провоспалительного цитокина IL-17, секретируемого преимущественно CD4+Th17-клетками и в меньшей степени нейтрофилами и CD8+Th17-клетками [20], последовательно нарастала с увеличением продолжительности воздействия диоксида азота и после 90-дневной экспозиции в 1,5 раза превышала интактное значение (табл. 1). Показано, что индуцированная IL-17 воспалительная реакция способствует прогрессированию хронических заболеваний легких, таких как ХОБЛ и бронхиальная астма [21, 22].

Таблица 1.

Иммунологический статус бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс после различных сроков воздействия диоксида азота ($M \pm m$)

Показатели	Интактная группа (n=11)	30 дней NO ₂ (n=9)	60 дней NO ₂ (n=9)	90 дней NO ₂ (n=9)
TNF- α , пг/мл	12,56 $\pm$ 1,24	21,35 $\pm$ 1,33 *	30,24 $\pm$ 2,56 **	33,76 $\pm$ 2,77**
IL-8, пг/мл	20,12 $\pm$ 1,32	29,47 $\pm$ 2,04 *	34,08 $\pm$ 2,13 *	39,53 $\pm$ 2,76**
IL-17, пг/мл	71,58 $\pm$ 6,79	89,56 $\pm$ 4,89	100,77 $\pm$ 6,40 *	110,74 $\pm$ 6,48*
NE, нг/мл	23,54 $\pm$ 3,20	29,56 $\pm$ 3,36	35,08 $\pm$ 2,70 *	42,51 $\pm$ 3,21**
ММР-12, нг/мл	0,89 $\pm$ 0,08	1,27 $\pm$ 0,11 *	1,37 $\pm$ 0,09 *	2,43 $\pm$ 0,17**
Химаза тучных клеток, нг/мл	1,63 $\pm$ 0,59	4,46 $\pm$ 1,06 *	11,52 $\pm$ 2,68 **	12,18 $\pm$ 2,77 **

TGF- β (нг/мл)	$0,67 \pm 0,05$	$3,77 \pm 0,98^*$	$31,27 \pm 4,24^{**}$	$33,45 \pm 2,21^{**}$
-------------------------	-----------------	-------------------	-----------------------	-----------------------

Примечание: * - различие с контролем достоверно, $p < 0,05$; ** - различие со сроком «30 дней NO_2 » достоверно, $p < 0,05$.

Таблица 2.

Цитограмма бронхоальвеолярной лаважной жидкости крыс после различных сроков воздействия диоксида азота ($M \pm m$)

Показатели	Интактная группа (n=9)	30 дней NO_2 (n=9)	60 дней NO_2 (n=9)	90 дней NO_2 (n=9)
Макрофаги, %	$85,7 \pm 1,9$	$69,5 \pm 3,8^*$	$57,8 \pm 6,8^*$	$43,8 \pm 5,8^{**}$
Нейтрофилы, %	$5,2 \pm 0,5$	$18,3 \pm 2,1^*$	$25,8 \pm 6,2^*$	$40,2 \pm 4,7^{**}$
Лимфоциты, %	$9,1 \pm 1,9$	$12,2 \pm 1,8$	$16,5 \pm 2,1^*$	$16,0 \pm 3,4^*$

Примечание: * - различие с контролем достоверно, $p < 0,05$; ** - различие со сроком «30 дней NO_2 » достоверно, $p < 0,05$.

Под влиянием TNF- α и IL-8 нейтрофилы секретируют во внеклеточное пространство протеазы, в том числе нейтрофильную эластазу, содержание которой в БАЛЖ к 60 дню экспозиции превышало интактный уровень в полтора раза, а к 90 дню – в 1,8 раза (табл. 1). С увеличением продолжительности воздействия диоксида азота последовательно нарастало содержание металлопротеиназы MMP-12, основным источником которой являются альвеолярные макрофаги и в меньшей степени бронхиальные эпителиальные клетки (табл. 1). Оба фермента (NE и MMP-12) отличаются высокой каталитической активностью в отношении эластина внеклеточного матрикса легочной паренхимы, разрушая который способствуют формированию участков эмфиземы [23, 24, 25]. Помимо деструкции легочной паренхимы, MMP-12 может активировать латентную форму TNF- α на поверхности макрофагов и таким образом усиливать хроническое воспаление дыхательных путей [26]. Повреждающее действие на мембранные структуры легочной ткани способны оказывать протеазы, высвобождающиеся из гранул тучных клеток, присутствующих в адвентиции и слизистой бронхов. После 60- и 90-дневной экспозиции диоксидом азота содержание химазы тучных клеток в пробах БАЛЖ в 7-7,5 раз превышало значения в интактной группе (табл. 1). Деструктивный эффект химазы на внеклеточный матрикс опосредован активацией интерстициальной коллагеназы. Кроме того, химаза усиливает воспалительную реакцию,

генерируя провоспалительный IL-1 β , и активирует эндотелин, способствуя формированию сосудистых нарушений и легочной эндотелиальной дисфункции [27].

Реактивные формы кислорода, включая диоксид азота, могут активировать TGF- β , основными клеточными источниками которого являются альвеолярные макрофаги и метапластические альвеолярные эпителиальные клетки II типа [28]. В пробах БАЛЖ интактных животных определялось незначительное количество TGF- β , поскольку в обычных условиях представители этого семейства ростовых факторов присутствуют во внеклеточном матриксе в неактивной форме (табл. 1). Значимый уровень TGF- β в БАЛЖ был зарегистрирован после 30 дней воздействия диоксида азота (табл. 1). Удлинение экспозиции до 60 и 90 дней сопровождалось еще большим нарастанием концентрации TGF- β по сравнению с 30-дневным уровнем (в 8,3 и 8,9 раза соответственно). TGF- β является ключевым профибротическим фактором, подавляя выработку антифиброзных молекул, таких как фактор роста гепатоцитов и простагландин E2, и репарацию клеток альвеолярного эпителия [28].

Изменения иммунологического профиля БАЛЖ коррелировали со структурными нарушениями, отмеченными в легочной ткани. После 60 дней воздействия диоксида азота наблюдались морфологические проявления хронического воспаления. Встречались участки атрофии и плоскоклеточной метаплазии бронхиального эпителия, увеличение числа бокаловидных клеток, клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок, расширенные респираторные бронхиолы и альвеолярные ходы. Выявлялись участки иррегулярной эмфиземы и очаги склероза, которые при удлинении экспозиции до 90 дней приобретали более выраженный характер панацинарной эмфиземы и очагового фиброза.

Заключение. Повреждающий эффект длительного воздействия вдыхаемого диоксида азота на легкие сопровождался активацией популяции иммунокомпетентных клеток бронхоальвеолярного пространства, прежде всего альвеолярных макрофагов, а также нейтрофилов и тучных клеток. По мере увеличения продолжительности экспозиции диоксидом азота иммунологический профиль БАЛЖ характеризовался нарастанием содержания провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-8, IL-17), что способствовало персистированию бронхолегочного воспаления, ферментов, обладающих протеазной деструктивной активностью (NE, MMP-12, химаза тучных клеток) и профибротического фактора TGF- β . Персистенция воспалительного процесса может обуславливать повышенную восприимчивость организма к различным инфекционным агентам. Происходящая на фоне хронизации бронхолегочного воспаления структурная перестройка легочной ткани (денудация и плоскоклеточная метаплазия реснитчатого эпителия

бронхов, гиперплазия и гиперсекреция бокаловидных клеток, эмфизема и очаговый фиброз) может служить морфологическим субстратом для формирования бронхиальной обструкции, сопутствующей таким заболеваниям как хроническая обструктивная болезнь легких и бронхиальная астма.

Список литературы

1. Brunekreef B., Strak M., Chen J. et al. Mortality and morbidity effects of long-term exposure to low-level PM_{2.5}, BC, NO₂, and O₃: An analysis of European cohorts in the ELAPSE project. *Res. Rep. Health Eff. Inst.* 2021; 2021: 208.
2. Chen Z., Liu N., Tang H. et al. Health effects of exposure to sulfur dioxide, nitrogen dioxide, ozone, and carbon monoxide between 1980 and 2019: A systematic review and meta-analysis. *Indoor Air*. 2022; 32(11): e13170. <https://doi.org/10.1111/ina.13170>.
3. Eum K.D., Honda T.J., Wang B. et al. Long-term nitrogen dioxide exposure and cause specific mortality in the U.S. Medicare population. *Environ. Res.* 2022; 207: 112154. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112154>.
4. Ko U.W., Kyung S.Y. Adverse effects of air pollution on pulmonary diseases. *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul)*. 2022; 85(4): 313–319. <https://doi.org/10.4046/trd.2022.0116>.
5. Liu S., Jorgensen J.T., Ljungman P. et al. Long-term exposure to low-level air pollution and incidence of chronic obstructive pulmonary disease: the ELAPSE project. *Environ. Int.* 2021; 146: 106267. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106267>.
6. Huang S., Li H., Wang M. et al. Long-term exposure to nitrogen dioxide and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Sci. Total. Environ.* 2021; 776: 145968. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145968>.
7. Tomos I., Dimakopoulou K., Manali E.D. et al. Long-term personal air pollution exposure and risk for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Environ. Health.* 2021; 20(1): 99. <https://doi.org/10.1186/s12940-021-00786-z>.
8. Yoon H.Y., Kim S.Y., Kim O.J., Song J.W. Nitrogen dioxide increases the risk of disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology*. 2023; 28(3): 254–261. <https://doi.org/10.1111/resp.14373>.
9. Copat C., Cristaldi A., Fiore M. et al. The role of air pollution (PM and NO₂) in COVID-19 spread and lethality: A systematic review. *Environ. Res.* 2020; 191: 1101–1109. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110129>.
10. Di Ciaula A., Bonfrate L., Portincasa P. et al. Nitrogen dioxide pollution increases vulnerability to COVID-19 through altered immune function. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2022; 29(29): 44404–44412. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19025-0>.

11. Ventura M.T., Casciaro M., Gangemi S., Buquicchio R. Immunosenescence in aging: between immune cells depletion and cytokines up-regulation. *Clin. Mol. Allergy*. 2017; 15: 21. <https://doi.org/10.1186/s12948-017-0077-0>.
12. Lebedeva E.S., Kuzubova N.A., Danilov L.N. et al. Experimental modelling of chronic obstructive pulmonary disease. *Bull. Exper. Biol. Med.* 2012; 152(5): 659–663. <https://doi.org/10.1007/s10517-012-1601-3>.
13. Gao W., Li L., Wang Y. et al. Bronchial epithelial cells: The key effector cells in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Respirology*. 2015; 20(5): 722–729. <https://doi.org/10.1111/resp.12542>.
14. Bontinck A., Maes T., Joos G. Asthma and air pollution: recent insights in pathogenesis and clinical implications. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2020; 26(1): 10–19. <https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000644>.
15. Двораковская И.В., Кузубова Н.А., Фионик А.М. и др. Патологическая анатомия бронхов и респираторной ткани крыс при воздействии диоксида азота. *Пульмонология*. 2009; 1: 54-61.
16. Joshi N., Walter J.M., Misharin A.V. Alveolar macrophages. *Cell Immunol.* 2018; 330: 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.01.005>.
17. Aegerter H., Lambrecht B.N., Jakubzick C.V. Biology of lung macrophages in health and disease. *Immunity*. 2022; 55(9): 1564–1580. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2022.08.010>.
18. Lugg S.T., Scott A., Parekh D., et al. Cigarette smoke exposure and alveolar macrophages: mechanisms for lung disease. *Thorax*. 2022; 77(1): 94–101. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-216296>.
19. Levänen B., Glader P., Dahlén B. et al. Impact of tobacco smoking on cytokine signaling via interleukin-17A in the peripheral airways. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016; 11: 2109–2116. doi: 10.2147/COPD.S99900.
20. Yanagisawa H., Hashimoto M., Minagawa S. et al. Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2017; 312(1): L122–L130. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00301.2016>.
21. Ritzmann F., Lunding L.P., Bals R. et al. IL-17 cytokines and chronic lung disease. *Cells*. 2022; 11(14): 2132. <https://doi.org/10.3390/cells11142132>.
22. Li D., Wang T., Ma Q. et al. IL-17A promotes epithelial ADAM9 expression in cigarette smoke-related COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2022; 17: 2589–2602. <https://doi.org/10.2147/COPD.S375006>.

23. Lamort A.S., Gravier R., Laffitte A. et al. New insights into the substrate specificity of macrophage elastase MMP-12. *Biol. Chem.* 2016; 397(5): 469–484. <https://doi.org/10.1515/hsz-2015-0254>.
24. Gharib S.A., Manicone A.M., Parks W.C. Matrix metalloproteinases in emphysema. *Matrix Biol.* 2018; 73: 34–51. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.018>.
25. Spix B., Butz E.S., Chen C.C. et al. Lung emphysema and impaired macrophage elastase clearance in mucolin 3 deficient mice. *Nat. Commun.* 2022; 13(1): 318. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27860-x>.
26. Demedts I.K., Morel-Montero A., Lebecque S. et al. Elevated MMP-12 protein levels in induced sputum from patients with COPD. *Thorax.* 2006; 61(3): 196–201. <https://doi.org/10.1136/thx.2005.042432>.
27. Douaiher J., Succar J., Lancerotto L. et al. Development of mast cells and importance of their tryptase and chymase serine proteases in inflammation and wound healing. *Adv. Immunol.* 2014; 122: 211–252. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800267-4.00006-7>.
28. Saito A., Horie M., Nagase T. TGF- β signaling in lung health and disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(8): 2460. <https://doi.org/10.3390/ijms19082460>.

References

1. Brunekreef B., Strak M., Chen J. et al. Mortality and morbidity effects of long-term exposure to low-level PM_{2.5}, BC, NO₂, and O₃: An analysis of European cohorts in the ELAPSE project. *Res. Rep. Health Eff. Inst.* 2021; 2021: 208.
2. Chen Z., Liu N., Tang H. et al. Health effects of exposure to sulfur dioxide, nitrogen dioxide, ozone, and carbon monoxide between 1980 and 2019: A systematic review and meta-analysis. *Indoor Air.* 2022; 32(11): e13170. <https://doi.org/10.1111/ina.13170>.
3. Eum K.D., Honda T.J., Wang B. et al. Long-term nitrogen dioxide exposure and cause specific mortality in the U.S. Medicare population. *Environ. Res.* 2022; 207: 112154. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112154>.
4. Ko U.W., Kyung S.Y. Adverse effects of air pollution on pulmonary diseases. *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul).* 2022; 85(4): 313–319. <https://doi.org/10.4046/trd.2022.0116>.
5. Liu S., Jorgensen J.T., Ljungman P. et al. Long-term exposure to low-level air pollution and incidence of chronic obstructive pulmonary disease: the ELAPSE project. *Environ. Int.* 2021;146:106267. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106267>.

6. Huang S., Li H., Wang M. et al. Long-term exposure to nitrogen dioxide and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Sci. Total. Environ.* 2021; 776: 145968. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145968>.
7. Tomos I., Dimakopoulou K., Manali E.D. et al. Long-term personal air pollution exposure and risk for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Environ. Health.* 2021; 20(1): 99. <https://doi.org/10.1186/s12940-021-00786-z>.
8. Yoon H.Y., Kim S.Y., Kim O.J., Song J.W. Nitrogen dioxide increases the risk of disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology.* 2023; 28(3): 254–261. <https://doi.org/10.1111/resp.14373>.
9. Copat C., Cristaldi A., Fiore M. et al. The role of air pollution (PM and NO₂) in COVID-19 spread and lethality: A systematic review. *Environ. Res.* 2020; 191: 1101–1109. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110129>.
10. Di Ciaula A., Bonfrate L., Portincasa P. et al. Nitrogen dioxide pollution increases vulnerability to COVID-19 through altered immune function. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2022; 29(29): 44404–44412. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-19025-0>.
11. Ventura M.T., Casciaro M., Gangemi S., Buquicchio R. Immunosenescence in aging: between immune cells depletion and cytokines up-regulation. *Clin. Mol. Allergy.* 2017; 15: 21. <https://doi.org/10.1186/s12948-017-0077-0>.
12. Lebedeva E.S., Kuzubova N.A., Danilov L.N. et al. Experimental modelling of chronic obstructive pulmonary disease. *Bull. Exper. Biol. Med.* 2012; 152(5): 659–663. <https://doi.org/10.1007/s10517-012-1601-3>.
13. Gao W., Li L., Wang Y. et al. Bronchial epithelial cells: The key effector cells in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Respirology.* 2015; 20(5): 722–729. <https://doi.org/10.1111/resp.12542>.
14. Bontinck A., Maes T., Joos G. Asthma and air pollution: recent insights in pathogenesis and clinical implications. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2020; 26(1): 10–19. <https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000644>.
15. Dvorakovskaya I.V., Kuzubova N.A., Fionik A.M., ..., et al. Pathological anatomy of the bronchi and respiratory tissue of rats exposed to nitrogen dioxide. *Pulmonology.* 2009; 1: 54–61 (in Russian).
16. Joshi N., Walter J.M., Misharin A.V. Alveolar macrophages. *Cell Immunol.* 2018; 330: 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.01.005>.
17. Aegerter H., Lambrecht B.N., Jakubzick C.V. Biology of lung macrophages in health and disease. *Immunity.* 2022; 55(9): 1564–1580. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2022.08.010>.

18. Lugg S.T., Scott A., Parekh D., et al. Cigarette smoke exposure and alveolar macrophages: mechanisms for lung disease. *Thorax*. 2022; 77(1): 94–101. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-216296>.
19. Levänen B., Glader P., Dahlén B. et al. Impact of tobacco smoking on cytokine signaling via interleukin-17A in the peripheral airways. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2016; 11: 2109–2116. doi: 10.2147/COPD.S99900.
20. Yanagisawa H., Hashimoto M., Minagawa S. et al. Role of IL-17A in murine models of COPD airway disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2017; 312(1): L122–L130. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00301.2016>.
21. Ritzmann F., Lunding L.P., Bals R. et al. IL-17 cytokines and chronic lung disease. *Cells*. 2022; 11(14): 2132. <https://doi.org/10.3390/cells11142132>.
22. Li D., Wang T., Ma Q. et al. IL-17A promotes epithelial ADAM9 expression in cigarette smoke-related COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2022; 17: 2589–2602. <https://doi.org/10.2147/COPD.S375006>.
23. Lamort A.S., Gravier R., Laffitte A. et al. New insights into the substrate specificity of macrophage elastase MMP-12. *Biol. Chem.* 2016; 397(5): 469–484. <https://doi.org/10.1515/hsz-2015-0254>.
24. Gharib S.A., Manicone A.M., Parks W.C. Matrix metalloproteinases in emphysema. *Matrix Biol.* 2018; 73: 34–51. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.018>.
25. Spix B., Butz E.S., Chen C.C. et al. Lung emphysema and impaired macrophage elastase clearance in mucolipin 3 deficient mice. *Nat. Commun.* 2022; 13(1): 318. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27860-x>.
26. Demedts I.K., Morel-Montero A., Lebecque S. et al. Elevated MMP-12 protein levels in induced sputum from patients with COPD. *Thorax*. 2006; 61(3): 196–201. <https://doi.org/10.1136/thx.2005.042432>.
27. Douaiher J., Succar J., Lancerotto L. et al. Development of mast cells and importance of their tryptase and chymase serine proteases in inflammation and wound healing. *Adv. Immunol.* 2014; 122: 211–252. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800267-4.00006-7>.
28. Saito A., Horie M., Nagase T. TGF- β signaling in lung health and disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(8): 2460. <https://doi.org/10.3390/ijms19082460>.